Untersuchungen über die Blätter von Cynara Scolymus L.

(Artischocke)

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität München.

Vorgelegt von

Fritz Feldmaier,

Apotheker aus München.

1940

Druckerei und Verlagsanstalt Bayerland, Anton Steigenberger, Dachau

Berichterstatter: Professor Dr. F. Schlemmer.

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Dezember 1940.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für pharmazeutische Arzneimittellehre (Pharmakognostische Anstalt) der Universität München durchgeführt.

Die Anregung zu dieser Arbeit bekam ich von Herrn Professor Dr. F. Schlemmer, dem Direktor des Instituts, der auch die Arbeit leitete.

Ich möchte nicht verfehlen, Herrn Prof. Dr. Schlemmer auch an dieser Stelle für sein wohlwollendes Interesse, das er mir und meiner Arbeit jederzeit entgegenbrachte, bestens zu danken.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Einleitung. Zweck der vorliegenden Arbeit	1
I. Geschichte der Artischocke	1
II. Anwendung der Artischocke als Heilmittel im Laufe der Zeiten	2
III. Art und Vorkommen des wirksamen Inhaltsstoffes	4
IV. Botanische und pharmakognostische Angaben	6
V. Chemische Aufarbeitung und Untersuchung	7
A. Beschaffung von Material	7
B. Voruntersuchungen	9
1. Qualitative Vorprüfungen	9
a) Prüfung eines wässrigen und salzsauren Auszuges	9
b) Extraktion mit neutralen Lösungsmitteln	10
c) Untersuchung von Zubereitungen	12
2. Quantitative Bestimmungen und Kennzahlen	13
a) Extraktgehaltsbestimmung	13
b) Wassergehaltsbestimmung	14
c) Aschebestimmung	15
d) Stickstoffbestimmung (Eiweiß)	15
e) Ammoniakbestimmung	16
f) Rohfaserbestimmung	16
g) Kupferzahlbestimmung	17
C. Hauptuntersuchungen. Prüfung auf bestimmte Stoffklassen	19
1. Alkaloide	20
2. Glykoside	21
3. Saponine	22
a) Allgemeine Wertbestimmungsmethode	23
b) Blutgelatinemethode	24

Seite

4. Gerbstoffe 25
5. Bitterstoffe 27
   a) Bleimethode 27
   b) Kohleadsorptionsverfahren 28
   c) Aufeinanderfolgende Extraktion mit organischen Lösungsmitteln 30
6. Darstellung einer kristallinen Substanz aus dem Ätherextrakt 32
   Untersuchung der Kristalle 32
7. Darstellung einer kristallinen Substanz aus der Bleifällung des Heißwasser-Extraktes 35
   Untersuchung der Kristalle 36

VI. Zusammenfassung 37

Untersuchungen über die Blätter von Cynara Scolymus L.
(Artischocke)

Einleitung.

Zweck der Arbeit.

Die Untersuchung von Pflanzen auf Inhaltsstoffe, durch die ihr Heilwert und damit eine aussichtsreiche Anwendung in der Medizin bestimmt wird, ist ein Aufgabengebiet der Pharmakognosie. Viele Pflanzen wurden schon daraufhin untersucht und immer neue traten dabei in den Gesichtskreis der Betrachtungen und des Studiums.

So hat auch seit über einem Jahrzehnt eine Pflanze, nicht gerade bei uns in Deutschland, sondern hauptsächlich in Frankreich, das besondere Augenmerk der Ärzte auf sich gelenkt, da ihre Wirkung als Arzneimittel für das erste überraschte.

Es ist dies die Artischocke (Cynara Scolymus L.), bei deren Erwähnung man allerdings zuerst an die sogenannten Blütenköpfe denkt, die für den Feinschmecker einen so begehrten Leckerbissen darstellen. Die arzneilichen Wirkungen aber, die gerade in neuester Zeit durch eingehende und erfolgreiche klinische Versuche erhärtet und erweitert wurden, lassen eine genaue Betrachtung und Untersuchung dieser Pflanze für angebracht erscheinen.

Im Folgenden soll nun versucht werden, einen Überblick zu geben über die Kenntnisse, die uns bis zum heutigen Tage über die Wirkung, die Inhaltsstoffe und die Pflanze selbst vorliegen. Daran anschließend soll über Ergebnisse eigener Untersuchungen berichtet werden.

I. Geschichte der Pflanze.

Schon auf den Opfertischen der alten Ägypter finden sich Abbildungen der an Tannen- oder Pinienzapfen erinnernden Artischockenköpfe. Doch können diese Darstellungen auch auf die Kardone bezogen werden.

Plinius erwähnt sie als eine Speise der Reichen und schlägt mannigfaltige Formen der Zubereitung vor. Nach Columella hatte die Kultur der Pflanze bereits eine hohe Stufe erreicht und man unterschied verschiedene Arten nach Farbe und Größe. Der

griechische Arzt Galenos gibt Anweisungen über die Verwendung zu Speisezwecken und der Römer Paladius (380 n. d. Z.) solche für ihre Kultur.

Die Hauptanbaugebiete waren im Altertum bei Karthago und bei Cordoba in Spanien.

Die Kenntnis der Verwertung soll späterhin in weiten Kreisen des Mittelmeergebietes verloren gegangen sein. Denn in Italien und Frankreich trat die Artischocke sicher erst wieder im 15. Jahrhundert auf. Sie soll nach Italien aus der Levante über Sizilien nach Neapel gekommen sein. In Südfrankreich wurde sie durch die Griechen eingeführt, womit man auch die Benennung der Gattung Cynara in Zusammenhang bringen will, da eine griechische Insel im Ägäischen Meere Kynara hieß. 1466 soll sie ein gewisser Strozza nach Frankreich gebracht haben und 1473 war sie in Venedig als eine seltene Gartenpflanze zu sehen gewesen. Sie wurde weiterhin in England und Belgien eingeführt. Abbildungen der Pflanze sieht man oft auf den Bildern niederländischer Maler.

II. Über die Anwendung der Artischocke als Heilmittel im Laufe der Geschichte.

Da ja die Pflanze hauptsächlich in Frankreich wegen des dort herrschenden günstigen Klimas angebaut wurde, sind auch nur, mit wenigen Ausnahmen, aus dem Munde französischer Ärzte und Gelehrter Urteile über die Wirkungen der Artischocke auf uns gekommen[1] [2]).

1578 erwähnte Mizauld den Wert des Artischockenblattes und der Artischockenwurzel. 1672 wies Bauderon auf die diuretische und appetitanregende Wirkung von Blatt und Wurzel hin. La Framboisière, der Leibarzt des französischen Königs Ludwigs XIII., und der Deutsche Peter Offenbach schätzten sie als Aphrodisiakum. Lemery erwähnte sie in seiner 1714 erschienenen Pharmakopöe und sprach von der Mariendistel oder der wilden Artischocke als einem Appetitmittel und einem Heilmittel bei Brustfellentzündungen und Wassersucht. Chomel, ein anderer königlicher Leibarzt, war der erste, der im Jahre 1741 in seinem „Traité des Plantes" auf die Wirkungen der Artischocke bei Gelbsucht hinwies und von ihrer Eigenschaft, die Leber und die Nieren zu öffnen, sprach. Der gelehrte Benediktinermönch Nicolas Alexandre schrieb in seinem „Dictionare botanique et pharmaceutique" (1748) der Artischocke vielerlei Wirkungen zu. Sie sei ein Herzmittel, schweißtreibend,

[1]) J. Brel, Bulletins et Mémoires de la Société de la Thérapeutique. 12. 6. 28. Bd. 63—64.

[2]) Monville, Thèse, Paris 1933.

schlafbringend und blutreinigend. Als besonders wirksam stellte er sie bei Gelbsucht und Wassersucht hin.

Für fast ein Jahrhundert schien nun die Artischocke in Vergessenheit geraten zu sein, bis im Jahre 1840 Guitteau und Chatin in der medizinischen Akademie von Poitiers von Arbeiten über die Artischocke berichteten und sie als ein Heilmittel ansprachen.

Auch in England wandte man die Artischocke unterdessen arzneilich an und ein Dr. Copeman (1823) verwandte eine Tinktur und einen Extrakt aus den Blättern gegen akuten und chronischen Rheumatismus. Der amerikanische Arzt William Lane wies 1889 in „The Therapeutical Gazette" auf die beruhigenden Eigenschaften der Artischocke hin und sprach von einer erfolgreichen Anwendung derselben bei Negern, die von der Gicht befallen waren. Und schließlich weiß man von einem Lyoner Arzt der Jahre um 1850, daß er einen Aufguß von Artischockenblättern gegen Gelbsucht mit gutem und raschem Erfolge anwandte.

1927 schrieb zum ersten Male G. E. Rosa[3]) über die choleretische und stark diuretische Wirkung der Artischocke.

1931 erschienen zwei wichtige Veröffentlichungen[4]) [5]), die sich mit der choleretischen Wirkung der Compositen und insbesondere der Artischocke befassen. Eingehende Versuche an Tieren und Menschen bewiesen eine deutlich meßbare und faßbare choleretische Wirkung.

Nach dem neuesten Stande der Forschung ist die Heilwirkung der Artischocke nach Arbeiten von Rosa[6]) und Tixier[7]) auf vier Haupteigenschaften zusammenzufassen:

1. Der Einfluß auf die Gallensekretion. Die Tätigkeit der Leber wird angeregt durch eine Wirkung auf die Leberzellen und die Gallensekretion wird vervierfacht.
2. Die Wirkung auf den Cholesterinstoffwechsel. Die cholesterolytische Eigenschaft des Blutserums gegenüber dem im Kreislauf befindlichen und im Gewebe festsitzenden Cholesterin wird erhöht. Darauf beruht die beachtenswerte Wirksamkeit der Artischocke bei Arterienverkalkung.
3. Die Wirkung auf die Diurese, die vermehrt wird.
4. Die Wirkung auf die Stickstoffausscheidung im Harn.

---

[3]) G. E. Rosa, De la feuille d'artichaut, La Nature, November 1927.

[4]) E. Chabrol, R. Charonnat, M. Maximin et R. Waitz, „L'Action cholérétique du Cynara scolymus, Comptes rendues hebd. Société de Biologie 1931, S. 1020.

[5]) Dieselben, „L'Action cholérétique des Composées, ebenda, 1931, S. 1100 ff.

[6]) Rosa, „La Feuille d'Artichaut en Thérapeutique", nach einer Werbeschrift der „Laboratoires Rosa. Paris".

[7]) Tixier, „Les Actions physiologiques et thérapeutiques de Cynara Scolymus", La Presse Medicale, 3. Juni 1939.

III. Über die Art und das Vorkommen des wirksamen Inhaltsstoffes.

Im Laufe der Zeiten schwankte die Meinung über die Art des wirksamen Bestandteiles sehr.

J. Brel[8]) berichtete innerhalb seines Vortrages vor der Therapeutischen Gesellschaft 1928, daß französische Ärzte um das Jahr 1855, auf der Suche nach dem Wirkstoff der Artischocke, auf ein bitteres Prinzip gestoßen seien und große Hoffnungen darauf setzten, in einem Auszug der Pflanze einen Ersatz für Chinin bezw. Chinarinde gefunden zu haben. Daraus läßt sich auch erklären, daß die Artischocken ehemals als fieberwidriges Mittel in Frankreich Anwendung fanden.

Guitteau beschäftigte sich 1840 mit den Inhaltsstoffen und kam seinerseits zu der Ansicht, daß der Artischocken-Extrakt eine auffallende Ähnlichkeit mit dem Aloin (Aloetin) der Aloe habe. Er schlug vor, den Wirkstoff Cynarin zu nennen und glaubte, er wäre ein Glykosid mit den Eigenschaften eines Anthrachinonderivates.

1927 beschäftigte sich G. E. Rosa[9]) mit der Art und dem Vorkommen des Wirkstoffes eingehender und fand, daß neben dem Nährwert der Artischocke ihr auch noch pharmakodynamische Wirkungen zukommen. Diese befänden sich aber nicht in dem eßbaren Teile, den Blütenköpfchen, sondern in den Blättern. Er sprach von einem Extrakt aus den Blättern, in dem alle Wirkstoffe enthalten seien und im Gegensatz zu dem sehr schlecht einzunehmenden Aufguß gut und ohne Nebenwirkung vertragen werde. Er hielt für den Hauptbestandteil des Extraktes das Cynarin, das er auch als einen Bitterstoff, ähnlich dem Aloetin der Aloe, ansah.

Der erwähnte Extrakt ist ein wässeriger oder mit verdünntem Alkohol bereiteter Auszug aus den Blättern, von kastanienbrauner Farbe, dessen Geruch an Lakritz erinnert. In Wasser ist er in allen Verhältnissen löslich und durch seinen sehr bitteren Geschmack, der an Enzian oder Chinarinde erinnert, ausgezeichnet.

Studien von Rosa, die sich hauptsächlich mit der Art des Bitterstoffes beschäftigten, hatten ergeben, daß Gerbstoffe, organische Salze des Kaliums, Kalziums, Magnesiums und Natriums vorhanden waren; in Spuren konnte Eisen und Zink auf spektographischem Wege nachgewiesen werden.

Chabrol und Mitarbeiter[10]) gingen 1931 der Frage nach den wirksamen Teilen der Pflanze noch einmal auf den Grund und kamen

[8]) Brel, l. c.

[9]) G. E. Rosa, l. c. „La nature", November 1927.

[10]) Chabrol und Mitarbeiter, l. c.

zu folgenden Ergebnissen, die sie auch mit mehreren Tierversuchen erhärteten. Die Gallensekretion eines Hundes steigt nach einer intravenösen Injektion eines Extraktes der Artischockenwurzel, sowie nach der Verabreichung eines Aufgusses der Blätter um das Vierfache. Der sogen. Artischockenboden und die Deckblätter beeinflussen die Gallensekretion in keiner Weise. Junge Blätter sind weniger wirksam als ausgewachsene. Eine Stabilisierung der Blätter ist nach Ansicht der Autoren nicht notwendig, wenn darauf geachtet wird, daß eine fermentative Veränderung innerhalb der getrockneten Blätter nicht stattfindet.

Nach Rosa[11]) ist nur ein Extrakt aus frischen Blättern wirksam. Um die unvermeidliche Fermentation zu vermeiden, — da ja die Zwischenzeit zwischen Ernte und Verarbeitung zu groß ist — ging er dazu über, die Blätter an Ort und Stelle auf gut durchlüfteten Hürden zu trocknen. Aber auch diese Methode brachte keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Das einzige Mittel nach Rosa ist, eine Frischsaftextraktion auf dem Erntefelde selbst vorzunehmen und diesen Frischsaft nach Entfernung des Pflanzeneiweißes in Fabriken zu verarbeiten.

Brel[12]) führte die choleretische und diuretische Wirkung auf den Gehalt an Kalium und Magnesiumsalzen zurück. Zur Prüfung dieser Angaben wurde Hunden einmal frischer Blätterextrakt eingespritzt und einmal die Lösung der Asche dieses Extraktes in verdünnter Salzsäure, die anschließend neutralisiert wurde. Der erste Versuch war voll wirksam. Der zweite dagegen erwies sich als unwirksam. Die diuretische Wirkung beruhte also nicht auf der Anwesenheit der anorganischen Salze.

Morellet glaubte in dem Wirkstoff auch einen dem Aloin nahestehenden Stoff gefunden zu haben, der, wie andere Anthrachinonkörper, die Bornträger'sche Probe gebe. Jedoch konnte diese Reaktion niemals wieder, weder im Laboratorium noch im klinischen Versuch, festgestellt werden.

Weitere Versuche ergaben, daß der wirksame Bestandteil durch Bleiazetat ausgefüllt werden kann, von saurer Natur ist und einer Stoffklasse zugehört, die eine zyklische Verbindung aufweist und Phenolcharakter hat.

Rosa[13]) ist es nach seinen Angaben gelungen, den Wirkstoff kristallisiert zu erhalten, der von ihm folgendermaßen beschrieben wird. Der wirksame Stoff kommt in der Pflanze sowohl im freien

---

11) Rosa, „Sur la localisation et la nature du principe actif du Cynara scolymus" in Les Echos de la Medecine, 1. 3. 1932.

12) Brel, l. c.

13) Rosa, l. c.

Zustande vor als auch in Verbindung mit Kalium, Natrium, Kalzium und Magnesium. Im reinen Zustand zeigt er sich in Form farbloser und vielgestaltiger Kristalle. Einer seiner Kompenenten besitzt ein leichtes Drehvermögen des polarisierten Lichtes nach links, der andere reduzierende Eigenschaften. In saurem Medium entfärben die Kristalle Kaliumpermanganatlösung.

IV. Botanische und pharmakognostische Angaben.

1. Botanische Angaben.

Die Gattung Cynara (L.), Artischocke, gehört der Familie der Compositen, Untergruppe Tubulifloren, an. Innerhalb dieser großen Familie gehört sie neben Carduus, Cirsium, Onopordon, um nur einige zu nennen, der Unterfamilie der Carduineen oder Cynareen an. Diese sind niedrige bis hohe Kräuter von Cirsium-artigem Aussehen mit meist großen, dornigen, ein- bis mehrfach fiederschnittigen Laubblättern. Von der Gattung Cynara unterscheidet man ca. 10 verschiedene Arten, die zum Teil einander sehr nahe stehen und im ganzen Mittelmeergebiet bis zu den Kanarischen Inseln verbreitet sind.

Cynara Scolymus L.[14]) ist eine krautartige Pflanze, die eine Höhe von 60—100 cm erreicht. Die Blätter können bis zu ½ m groß werden, sie sind einfach fiederspaltig untergegliedert. Die einzelnen Fiederlappen sind auf der Oberseite von hellgrüner Farbe und unbehaart. Die Unterseite ist infolge sehr dichter wollig-filziger Behaarung von weißer Farbe. Diese Behaarung kann an einzelnen Blättern noch besonders stark entwickelt sein. Die Blätter besitzen gelbliche Dornen. Die Blattstiele und Blattstengel der Pflanze sind ebenfalls dicht graufilzig behaart.

Die Kultur der Pflanze[15]) selbst ist leicht, doch erfordert sie guten Boden. Am besten geeignet ist Marschboden in der Nähe des Meeres. Im allgemeinen wächst sie begünstigt in allen den Ländern, die ein mäßig warmes und feuchtes Klima besitzen. Der Süden Europas ist besonders bevorzugt. Der Boden soll leicht, reich an Humus und Kalisalzen und torfhaltig sein.

2. Pharmakognosie[16]).

Anatomie des Blattes. Das Mesophyll besteht aus einem deutlich von einander abgegrenzten, zweischichtigen Palisadenparenchym mit enggestellten zylindrischen Zellen. Darauf folgt ein ca. 5 Zellagen

[14]) Hegi, Flora v. Mitteleuropa, Bd. VI/2, S. 924.

[15]) Monville, l. c.

[16]) Dissertation Beck, München.

tiefes Schwammparenchym. Das Mesophyll ist ober- und unterseits von einer Epidermis mit verschiedenen Anhangsorganen bedeckt.

Vor allem auf der Unterseite kommen Drüsenköpfchen vor, die den allgemeinen Bautypus aufweisen, wie er in ähnlicher Form auf Blüten und Blättern sich auch findet. Für eine Diagnostizierung in Pulver können sie aber nicht verwertet werden.

Von den der Epidermis auf Ober- und Unterseite aufsitzenden Deckhaaren können drei Typen unterschieden werden. Auf der Oberseite, die makroskopisch unbehaart erscheint, finden sich sehr spärlich und vereinzelt gedrungene, zuweilen keilförmige, aus breiter Basis sich erhebende, von mehreren Grundzellen umgebene 4- bis 5-zellige Haare mit überaus starken Wandverdickungen der unteren und mittleren Zellen.

Auf der Blattunterseite finden sich folgende zwei Typen:

1. einzelne kleine Deckhaare, die meist nur aus 2 oder 3 Zellen bestehen;
2. in größerer Häufigkeit lange, einreihige Gliederhaare, die aus mehreren Einzelzellen — bis zu 8 — bestehen können, deren Abschluß eine sehr lange, peitschenförmige, unregelmäßig gebogene und gewundene Endzelle bildet. Sie unterscheiden sich von den Peitschenhaaren von Tussilago farfara dadurch, daß diese nur 3- bis 4-zellig, die der Artischocke aber 7- bis 8-zellig sind.

V. Chemische Aufarbeitung und Untersuchung der Droge.

A. Beschaffung von Material.

Wie aus den Angaben der einschlägigen Literatur hervorgeht, ist der Sitz des wirksamen Stoffes in den Blättern zu suchen. Da aber nun die Artischocke keine eigentlich in Deutschland heimische Pflanze ist, war man auf die Beschaffung von Rohmaterial bezw. Ausgangsmaterial zu weiteren Untersuchungen zunächst auf das Ausland angewiesen. Die Schwierigkeiten, die dabei auftraten, waren zum Teil recht beträchtlich.

Als Hauptlieferanten kamen vor allem Frankreich und in geringerem Umfange Jtalien in Frage. Erst später traten dazu Ernten von deutschen Artischocken, insbesondere aus einem Hofgut in Wachenheim/Pfalz, das auch in der Folgezeit mit einem anderen Lieferanten aus Karlsruhe für genügendes Ausgangsmaterial*) sorgte.

*) Die Beschaffung von Rohmaterial aus dem Auslande, sowie von heimischen Anbauern besorgte die Firma Chem. Fabriken Knoll AG. Ludwigshafen, die auch nach meinen Angaben größere Mengen Extrakte herstellte. Es ist mir eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle für das großzügige Entgegenkommen bestens zu danken.

An Rohmaterial stand zur Verfügung:

1. Unbearbeitetes Rohmaterial:

Getrocknete Blätter. Die Artischockenblätter wurden in frischem Zustand angeliefert und so von den dicken, fleischigen Stengeln abgestreift. Die reine Blattware wurde nun zum Teil auf Hürden, vor der Sonne geschützt, zum Trocknen aufgelegt, zum Teil in Vakuumtrockenschränke verbracht, um so eine möglichst schonende Trocknung zu gewährleisten.

Der Wassergehalt der frischen Blätter schwankte je nach den einzelnen Lieferungen zwischen 88 und 90%, war also ziemlich hoch. Die nun so getrockneten Blätter wurden zu einem groben Pulver verarbeitet. Das Blattpulver ist dunkelgrün, besitzt einen eigentümlichen, an Wermut erinnernden Geruch und schmeckt nach längerem Kauen sehr deutlich und anhaltend bitter.

2. An bearbeitetem Rohmaterial stand zur Verfügung:

a) ein Preßsaft aus frischen Blättern und Stengeln, der im Vakuum eingedickt worden war. Er war von der Beschaffenheit eines Extr. spissum des DAB und von dunkelgrüner Farbe. Er roch leicht aromatisch eigentümlich wie die Blätter und hatte einen ebensolchen, nebenher salzigen und sauer zusammenziehenden Geschmack, der an Electuarium Sennae erinnerte. Beim Erhitzen auf dem Wasserbade wurde er zähflüssig.

b) Der Rückstand dieses Preßsaftes wurde mit Alkohol ausgezogen und war gleichfalls im luftverdünnten Raume eingeengt worden. Bei gewöhnlicher Temperatur war er zähflüssig, beim Erhitzen auf dem Wasserbade wurde seine Beschaffenheit ebenfalls dünnflüssig. Er war von dunkelgrüner Farbe, der Geruch war der gleiche wie der des Preßsaftes, er schmeckte aber im Gegensatz dazu stark bitter.

c) Des weiteren stand ein Extrakt aus den getrockneten Blättern zur Verfügung. Diese waren mit 45%igem Alkohol ausgezogen worden und der entstandene Auszug wurde im Straubschen Vakuum-Trockner eingeengt, bis der Auszug die Beschaffenheit eines Trockenextraktes des DAB hatte.

d) Andere mit besonderen Lösungsmitteln und nach besonderen Vorschriften hergestellte Pflanzenauszüge werden bei den betreffenden Abschnitten, die ihrer Untersuchung gewidmet sind, besonders erwähnt.

Zunächst seien die Untersuchungen an der Pflanze selbst, d. h. an den getrockneten Blättern, vorweg genommen.

B. Voruntersuchungen.

1. Qualitative Vorprüfungen.

Um zunächst einen allgemeinen Überblick über die Inhaltsstoffe zu erhalten, wurden einige Vorproben ausgeführt.

a) Prüfung eines wässerigen und salzsauren Auszuges.

5,0 g getrocknete Artischockenblätter wurden mit 95 ccm destilliertem Wasser übergossen, kurze Zeit kalt digeriert und dann ¼ Stunde auf einem Wasserbade von 60° erwärmt. Diese Zubereitung wurde filtriert und das Filtrat untersucht. Die Ergebnisse sind im folgenden zusammengestellt.

1. Farbe und Aussehen.
   Das Filtrat war dunkelbraun, hatte den eigentümlichen Geruch der Blätter und schmeckte deutlich bitter.
2. Die Reaktion war schwach lackmussauer.
3. Auf Zugabe von einigen Tropfen Eisenchloridlösung erfolgte eine leichte Trübung von schmutzig-grüner Farbe.
4. Auf Zugabe von 10%iger neutraler Bleiazetatlösung entstand eine grün-gelbe Fällung, die sich beim Schütteln zusammenballte. Das Filtrat davon war deutlich aufgehellt (hellgelbgrün) und gab auf Zusatz von Bleiessig (basischem Bleiazetat) keine Fällung mehr.
5. Fehling'sche Lösung erzeugte zunächst eine Grünfärbung, nach dem Erhitzen schied sich ein gelber bis gelbroter Niederschlag ab.
6. Die Zugabe einer gleichen Raummenge 96%igen Alkohols erzeugte einen flockigen, braungefärbten Niederschlag.
7. Die Biuretprobe war negativ.
8. Probe nach Molish. Das Filtrat wurde mit 2 Tropfen 20%iger alkoholischer α-Naphthol-Lösung versetzt (schmutziger Niederschlag) und mit konzertrierter Schwefelsäure vorsichtig unterschichtet. Es bildete sich nicht sofort, aber doch nach längerem Stehen an der Berührungsstelle ein weinroter Ring aus, der, beim auffallenden Licht betrachtet, in das Violette spielte. Unterhalb dieses Ringes konnte noch ein hellgrüner Ring beobachtet werden.

Des weiteren wurden 3,0 g gepulverte Blätter mit kochendem Wasser, das 1% Salzsäure enthielt, übergossen und ¼ Stunde auf dem Wasserbade von 60° erwärmt. Nach dem Erkalten wurde filtriert und das Filtrat ebenfalls untersucht.

1. Das Filtrat wurde nacheinander mit verschiedenen Alkaloid-Reagenzien versetzt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Aufstellung zusammengefaßt:
   a) mit Mayer's Reagenz: eine leichte Opaleszenz
   b) mit 10%iger Tanninlösung: negativ
   c) mit Jodjodkaliumlösung: negativ
   d) mit Pikrinsäurelösung: negativ.
2. Ein anderer Teil des Filtrates wurde mit frisch bereiteter Fehlingscher Lösung versetzt und erhitzt. Die Ausfällung von Kupfer-(I)oxyd trat sofort und in vermehrtem Umfange ein.
3. Auch die Molish'sche Probe mit α-Naphthollösung verlief gleichartig wie bei dem vorherigen Filtrate. Auch hier war die Färbung des Ringes an der Berührungsstelle weinrot und bildete sich erst nach zweistündigem Stehen deutlich aus.

Schüttelprobe.

3,0 g Droge wurden mit wenig Wasser, dem etwas Natriumkarbonat zugesetzt war, stark geschüttelt. Es bildete sich ein starker Schaum, der aber nicht allzu lange bestehen blieb.

b) Extraktion mit neutralen Lösungsmitteln.

Die Droge wurde möglichst erschöpfend mit verschiedenen, meist organischen Lösungsmitteln, wie Petroläther, Äther, Chloroform usw. ausgezogen. Die Extraktion wurde in einem Soxhlet-Apparat durchgeführt. Diese Methode des Ausziehens gibt verhältnismäßig gute Anhaltspunkte und Hinweise über die Löslichkeitsverhältnisse einiger Inhaltsstoffe bezw. Stoffklassen.

Ausführung:

200,0 g grob gepulverte, getrocknete Artischockenblätter wurden zunächst mit $^5/_4$ Liter Petroläther erschöpfend ausgezogen (Lösung A).

Der Petrolätherauszug ist im durchfallenden Licht schön gelbgrün gefärbt, riecht angenehm aromatisch, eingentümlich. Beim Verdunstenlassen bleibt ein grüner, sich fettig anfühlender, schmieriger Rückstand zurück.

Mit ihm wurde die Reaktion von Hager-Salkowski (Phytosterine) durchgeführt. Sehr wenig Rückstand wurde in Chloroform gelöst und dann mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. Nach längerem Stehen färbte sich die Chloroformschicht rot und die Schwefelsäureschicht begann grün zu fluoreszieren. Die abgeheberte rote Chloroformlösung schlug beim Eingießen in eine Porzellanschale nach blau und grün um.

Die Hager-Salkowski-Probe konnte demnach als positiv angesehen werden. Sie kann aber, was hier sehr leicht möglich ist, neben den Phytosterinen auch auf Harze und Harzöle hinweisen.

Die Petroläther-Lösung wurde dreimal hintereinander mit salzsäurehaltigem Wasser ausgeschüttelt, um eventuell vorhandene Alkaloide auszuziehen. Um die Petrolätherlösung wieder von Säure zu befreien, wurde sie noch zweimal mit neutralem Wasser durchgeschüttelt.

Die wässerigen Ausschüttelungen wurden eingeengt und darin mit den bekannten Reagenzien die Alkaloid-Reaktion durchgeführt. Diese waren negativ. Von der nach dem Ausschütteln mit Wasser verbliebenen Petrolätherlösung wurde der Petroläther abdestilliert und der Rückstand mit siedendem 90%igem Weingeiste aufgenommen. Nach dem Erkalten schied sich aus der weingeistigen Lösung ein grün gefärbter, fettiger Stoff ab.

Ein Teil der Petroläther-Lösung wurde durch eine mit Aluminiumoxyd beschickte Adsorptionsröhre gefiltert, um damit einen Überblick zu bekommen, ob eine Möglichkeit der Zerlegung der Inhaltsstoffe auf chromatographischem Wege gegeben ist.

Es bildeten sich mehrere, deutlich voneinander getrennte, farbige Schichten aus. Nach einer obersten dunkelgrünen Zone folgte eine hellgrüne, dann gelbrote, eine ungefärbte und zuletzt eine rote Zone. Bei Betrachtung der Adsorptionsröhre im ultravioletten Lichte konnten noch bedeutend mehr, deutlich von einander getrennte Zonen beobachtet werden.

Der nach dem Verdunsten des Petroläthers verbliebene Rückstand leuchtete in ultraviolettem Lichte tiefrot auf (Chlorophyll).

Nachdem die Droge durch Trocknen an der Luft vollständig vom Petroläther befreit worden war, wurde sie von neuem in den Soxhlet-Apparat gefüllt und mit Äther möglichst erschöpfend (12 Stunden) ausgezogen (Lösung B).

Der Auszug war stark grün gefärbt und fluoreszierte rot (Chlorophyll).

Der Geruch war mild, ätherisch; der Geschmack eindeutig und stark bitter.

Der Äther wurde am Wasserbade abdestilliert. Die Prüfung des Rückstandes auf Glykoside und Alkaloide war negativ.

Bei Behandlung des Rückstandes mit kaltem Wasser löste sich in diesem nichts. Bei einem Erwärmen des Rückstandes und Behandeln mit heißem Wasser ging wenig in Lösung. Nach dem Abfiltrieren von dem dunkelgrünen Rückstand opalisierte das Filtrat sehr stark. Es schmeckte sehr stark und nachhaltig bitter.

Wurde die wässerige Lösung mit Petroläther ausgeschüttelt, so ging in diesen ein gelber Farbstoff über. Die opalisierende Trübung verschwand auf Zusatz von Methylalkohol.

In Weingeist war der dunkelgrüne Rückstand völlig löslich. Die Lösung schmeckte stark bitter.

Auch der Ätherextrakt wurde durch eine Aluminiumoxydröhre geschickt und es ergaben sich ähnliche Ergebnisse wie bei der Petrolätherlösung, nur mit dem geringen Unterschied, daß die Farbtiefe und Reihenfolge der einzelnen Schichten eine andere war. Der Rückstand des Ätherextraktes leuchtete ebenfalls im ultravioletten Lichte tiefrot auf.

Eine Trennung der verschiedenen Stoffe scheint damit, wenn auch mit Schwierigkeiten verbunden, möglich zu sein.

Anschließend an die Extraktion mit Äther wurde die Droge noch einmal nach dem Trocknen in den Soxhlet gebracht und mit Chloroform erschöpfend ausgezogen (Lösung C).

Auch dieser Auszug war noch von grüner Farbe. Er schmeckte schwach bitter. Nach dem Abdestillieren des Chloroforms wurden im Rückstand die Proben auf Glykoside und Alkaloide durchgeführt. Sie waren ebenfalls negativ.

In Wasser löste sich nur ein Teil des Rückstandes mit schmutziggrüner Farbe. In 96%igem Weingeist und auch in verdünntem Alkohol konnte eine vollständige Lösung erzielt werden. Die Lösungen schmeckten bitter.

Von einer weiteren Behandlung der Droge mit Alkohol bezw. Wasser konnte abgesehen werden, da sowohl ein alkoholisch wässeriger Gesamtextrakt wie auch ein eingeengter rein wässeriger Extrakt zur Untersuchung vorlagen. Auf diese Auszüge wird an anderer Stelle noch einmal eingegangen werden.

c) Untersuchung von Zubereitungen.

Mit dem eingangs erwähnten, im Vakuum eingeengten Preßsaft wurden ebenfalls einige orientierende Vorproben angestellt. Er erwies sich in kaltem Äther, Petroläther und Alkohol unlöslich. In Wasser löste er sich mit schmutzig-brauner Farbe nicht ganz klar. Beim Schütteln schäumte er stark. Die Reaktion war lackmussauer. Mit Eisenchloridlösung trat keine Verfärbung ein, eine Zugabe von Alkohol rief eine Trübung hervor. Die Fehling'sche Probe war positiv und neutrales Bleiazetat rief eine Fällung hervor.

Auch der aus dem Rückstand dieses Preßsaftes hergestellte alkoholische Extrakt wurde einer Vorprüfung unterzogen.

Im allgemeinen waren die Reaktionen die gleichen wie bei der Untersuchung des Preßsaftes. Als bemerkenswert erschien die Tat-

sache, daß der in diesem Auszug enthaltene bittere Stoff nicht mit in die Bleifällung ging, sondern in ihrem Filtrate verblieb und darin durch Einengen angereichert werden konnte. Fehling'sche Lösung wurde davon stark reduziert. Auch die Alkaloidreagenzien riefen Niederschläge hervor, die sich allerdings beim Erhitzen wieder auflösten und dann beim Erkalten sich wieder ausschieden.

Zusammenfassung:

Faßt man das Ergebnis dieser Vorprüfungen zusammen, so hat man dadurch im großen und ganzen wenigstens Hinweise auf einige Stoffe bekommen, die sich in der Pflanze finden können.

Darnach scheinen Pflanzensäuren oder sauere Salze bezw. phenolartige Verbindungen enthalten zu sein (lackmussauere Reaktion). Auch Gerbstoffe scheinen vorzukommen (Eisenchloridprobe). Pflanzenschleime und Eiweißstoffe konnten nachgewiesen werden (Fällung mit Alkohol). Reduzierende Substanzen zeigten sich durch die Fehlingsche Probe an. Auf die Gegenwart von Saponinen (Schüttelprobe), Alkaloiden, Glykosiden (Molish'sche Probe) und Bitterstoffen (Geschmacksprobe) konnte geschlossen werden. Das Vorkommen von Sterinen schien sehr wahrscheinlich.

Natürlich bieten alle diese Reaktionen keinen genauen Anhaltspunkt, sie geben vielmehr nur eine allgemeine Richtung an, in die weitere Untersuchungen geleitet werden müssen.

Unter den Stoffen, deren Gegenwart durch diese Vorproben wahrscheinlich erschien, befindet sich auch eine Reihe therapeutisch und physiologisch sehr bedeutsamer Stoffklassen (Alkaloide, Glykoside, Saponine, Gerbstoffe, Bitterstoffe). Diese Stoffe wurden insbesondere einer genaueren Prüfung unterzogen.

2. Quantitative Bestimmungen und Kennzahlen.

Zur allgemeinen Analyse einer Pflanze gehört neben der Untersuchung und Bestimmung einzelner Inhaltsstoffe auch die Charakterisierung der Droge durch bestimmte Kennzahlen. Die neuere Pflanzenchemie hat viele und vielseitige Methoden dafür ausgearbeitet. Jedoch nur einige bieten Gewähr für Konstanz und Vergleichbarkeit der Werte. Es wurden folgende Bestimmungen und Zahlen berücksichtigt: Extraktgehalt, Wassergehalt, Eiweiß, Ammoniak, Rohfaser und Kupferzahl.

a) Extraktgehaltsbestimmung.

Diese Bestimmung verfolgt den Zweck, uns darüber Aufschluß zu geben, inwieweit durch bestimmte Lösungsmittel — bei gleichen Ver-

suchsbedingungen — Inhaltsstoffe erfaßt werden und welches der Lösungsmittel in der Lage ist, das Meiste aus der Pflanze auszuziehen.

Als Methode wurde die Extraktbestimmung nach J. D. Riedel[17]) gewählt.

Ausführung:

1,5 g der feingepulverten, lufttrockenen Droge wurden in einem 250-ccm-Schliffkolben mit 150 g des Lösungsmittels übergossen. Nach dem Umschwenken wurde das Gesamtgewicht von Kolben und Inhalt festgestellt. Unter gelegentlichem Umschütteln wurde zwei Stunden stehen gelassen, dann wurde der Kolben an einen Rückflußkühler gebracht und 2 Stunden lang bei kleiner Flamme bezw. über einer elektrischen Heizplatte im Sieden gehalten. Nach dem Erkalten wurde das Gewicht nachgeprüft und, wenn notwendig, mit dem Lösungsmittel ein eingetretener Verlust ergänzt. Daraufhin wurde durch bedeckte Faltenfilter filtriert und in zwei offene, weite, vorher genau gewogene Glasschalen je 50,0 g Filtrat (2mal 50,0 g Filtrat = 1,0 g Droge) gewogen und auf dem Wasserbade eingedampft. Der Rückstand wurde bei 102° im elektrischen Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und dann gewogen. Der Trockenrückstand von 2mal 50,0 g mal 100 = Prozentgehalt an Extrakt.

Die Bestimmung wurde mit Wasser, Alkohol 96%ig, Alkohol 70%ig, Alkohol 45%ig und Petroläther durchgeführt.

Extraktgehaltsbestimmung:

Extraktionsmittel	*Trockenrückstand von je 50 g Filtrat = 0,5 g Droge in*		*ergibt Extraktgehalt in %*
	Wägeglas I	*Wägeglas II*	
Wasser	0,3241 g	0,3239 g	64,80
Alkohol 96%	0,1562 g	0,1558 g	31,20
Alkohol 70%	0,2558 g	0,2562 g	51,20
Alkohol 45%	0,2545 g	0,2551 g	50,96
Petroläther	0,0191 g	0,0187 g	3,78

b) Wassergehaltsbestimmung.

Der Wassergehalt einer Droge ist naturgemäß großen Schwankungen unterworfen. Er hängt einmal sehr von den Bedingungen ab, unter denen nach der Ernte die Trocknung vorgenommen wird. Eine ebenfalls große Rolle spielt die Lagerung der Pflanze. Die frische Pflanze hatte einen durchschnittlichen Wassergehalt von 88—90%. Die sogenannte lufttrockene Droge enthält aber immer noch Wasser. Man bestimmt dieses nun dadurch, daß man einige Gramm der Droge in einem weiten Glasschälchen hintereinander jeweils eine

[17]) Peyer, Analytische Praxis, S. 152.

Stunde bei 105° im Trockenschrank beläßt bis Gewichtskonstanz eingetreten ist. Den dabei eingetretenen Gewichtsverlust nimmt man als Wasser an, doch muß man sich dabei klar sein, daß dabei auch alle anderen bei 105° flüchtigen Stoffe verloren gehen. Auch darf die Trocknung durch Überschreiten der Temperatur nicht übertrieben werden, da sonst durch Verschwelung der organischen Substanz falsche Werte, Überwerte, entstehen.

Als ein Mittelwert konnte ein Wassergehalt von 13,9% festgestellt werden.

Wassergehaltsbestimmung:

	Einwaage	*Rückstand*	*Wassergehalt*	*Mittelwert*
I	2,9732 g	2,5680 g	13,63%	13,9%
II	3,1842 g	2,8783 g	14,02%	
III	2,9932 g	2,5726 g	14,05%	

c) Asche.

Die Aschebestimmung gibt uns Aufschluß über den Gehalt der Pflanze an mineralischen Bestandteilen. Die Veraschung wurde unter Berücksichtigung der notwendigen Maßnahmen in einer Quarzschale (Weinschalenform) ohne Vermischung mit Sand vorgenommen.

Beim Anheizen entflammte die Droge. Die Verbrennungsprodukte rochen leicht aromatisch. Sie erinnerten an den Rauch von verbrennenden Stechapfelblättern. Nach dem Abbrennen und weiterem Erhitzen konnte ein deutlicher Geruch nach Ammoniak wahrgenommen werden. Ein in die entweichenden Gase gehaltenes feuchtes Lackmuspapier wurde gebläut. Das Glühen wurde bis zum Konstantwerden des Rückstandes fortgesetzt. Die Asche selbst blieb leicht gelbgrau gefärbt.

Als Mittelwert mehrerer Bestimmungen ergab sich ein Aschegehalt von 15,25%.

Aschegehaltsbestimmung:

	Einwaage	*Asche*	*Asche in %*	*Mittelwert*
I	4,9982 g	0,7660 g	15,32%	15,25%
II	5,0864 g	0,7746 g	15,23%	
III	4,9955 g	0,7795 g	15,11%	
IV	4,9500 g	0,7592 g	15,33%	

d) Stickstoffbestimmung (Eiweiß).

Einen wertvollen Hinweis auf die Zusammensetzung einer Pflanze erhält man auch, wenn man die Bestimmung des enthaltenen Stickstoffs durchführt. Diese wird nach der Kjeldahlmethode vorgenommen.

Die Kjeldahlbestimmung wurde mit 2 g getrockneten Blättern durchgeführt. Um eine raschere Zerstörung zu bewirken, wurde als Katalysator ein Körnchen metallisches Selen zugefügt. Die Zerstö-

rung der organischen Substanz war nach 8—10 Stunden beendet. Die Destillation selbst wurde in der Apparatur nach Parnas-Wagner durchgeführt.

Als Mittel mehrerer Bestimmungen wurde ein Stickstoffgehalt von 3,55% errechnet, was nach Multiplikation mit dem empirischen Faktor 6,25 einem Gehalt von 22,19% Eiweiß entspricht.

Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl:

	Einwaage	*Verbrauch an n/10 Schwefelsäure*	*N-gehalt in %*	*Mittelwert*
I	2,0614 g	12,56 ccm	3,40%	
II	2,0000 g	13,19 ccm	3,69%	3,55%
III	2,0147 g	13,16 ccm	3,66%	

e) Ammoniakbestimmung.

Das bei der Verbrennung bezw. bei der Veraschung auftretende Ammoniak ließ eine Gehaltsbestimmung von Ammoniak in der Pflanze selbst angebracht erscheinen. Sie wurde folgendermaßen durchgeführt: 10,0 g Droge wurden mit 50 g Wasser übergossen und ca. 10 Minuten auf dem Drahtnetz ausgekocht. Die Droge wurde in einer kleinen Handpresse scharf abgepreßt und der Extrakt durch Watte filtriert. Von diesem Extrakt wurden 25 g = 5 g Droge benützt und der Ammoniakgehalt in der oben erwähnten Apparatur nach Parnas-Wagner wie bei der Kjeldahlmethode bestimmt (1 ccm HCl = 1,7031 mg NH_3.) Es wurden 6,75 cm^3 n/10 HCl verbraucht, was 11,5 mg Ammoniak entspricht.

Danach errechnete sich der Gehalt an Ammoniak zu 0,23%, als Ammoniumchlorid berechnet zu 0,88% NH_4Cl.

f) Rohfaser.

Die Begriffsbestimmung der Rohfaser ist eine sehr ungenaue und war vor allem auch im Laufe der Zeiten nicht einheitlich. Ursprünglich verstand man darunter das Unverdauliche einer Pflanze. Erst seit J. König[18]) wurde der Begriff genauer umrissen und als der Rückstand bezeichnet, der nach einer bestimmten Behandlung von Pflanzen mit verdünnten Säuren und Alkalien bestimmten Gehaltes zurückbleibt. Dieser Rückstand ist aber kein einheitlicher Stoff, d. h. er schließt neben Zellulose, dem Hauptbestandteil, noch geringere und größere Mengen verschiedener sonstiger Bestandteile der Zellmembran ein[19]), die ebenfalls einer Lösung durch Säuren oder Alkalien unterworfen sind.

[18]) J. König, Die Untersuchungen landwirtschaftlich und landwirtschaftlich-gewerblich wichtiger Stoffe, I, S. 387 ff. und Ztschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel.

[19]) Suthoff in Klein, Handb. d. Pflanzenanalyse, Bd. III/1 II, S. 239 ff.

Um diese Fehlerquellen auszuschließen, sah man sich gezwungen, eine neue Begriffsbestimmung der Rohfaser zu finden mit dem Ziele, dabei zu Ergebnissen von analytischem Werte zu gelangen. Dabei kamen Kürschner und Hanak [20]) überein, zu einer Bestimmung der Rohzellulose überzugehen.

Die Methode beruht auf einem Aufschluß der Droge mittels eines Gemisches von 10 Teilen 80%iger Essigsäure und 1 Teil 65%iger Salpetersäure durch Kochen während einer gewissen Zeit.

Aus den erwähnten Gründen wurde das sogen. Weender-Verfahren, das eine Rohfaserbestimmung auf der Grundlage aufeinanderfolgender Behandlung mit 1,25%iger Schwefelsäure und 1,25%iger Kalilauge durchführt, außer Acht gelassen und eine Bestimmung der Rohzellulose nach Kürschner und Hanak vorgenommen.

Ausführung:

0,3 g (genau gewogen) getrocknete Blätter (pulv. gross.) wurden in einem Acetylierungskölbchen mit einem Gemisch von 15 ccm Essigsäure 80%ig und 1,5 ccm Salpetersäure etwa 65%ig übergossen, und durch Umschwenken gleichmäßig verteilt. Nach dem Aufsetzen eines eingeschliffenen Kühlrohres wurde der Aufschluß mittels kleiner Sparflamme 20 bis 25 Minuten im Sieden erhalten. Hierauf wurde heiß durch einen Goochtiegel A_2 gesaugt, der vorher mit wenig Essigsäure angefeuchtet war. Bei der nachfolgenden Waschung wurde der Rückstand stets mit einem Glasstäbchen aufgerührt und die Waschung selbst in der nachstehenden Reihenfolge vorgenommen. Zuerst 7—10 ccm heißes Aufschlußreagenz, dann heißes Wasser, hierauf einige Tropfen Alkohol und 5—10 ccm Äther, dann noch einmal 1—2 ccm heißes Aufschlußreagenz und schließlich heißes Wasser bis zum völligen Verschwinden des Essigsäure-Geruches. Um sämtliche Reste der Rohzellulose aus dem Aufschlußkölbchen herauszulösen, wurde jeweils ein Teil der Waschflüssigkeit vorher im Kölbchen erhitzt und umgeschwenkt. Das Trocknen der Rohzellulose wurde im elektrischen Trockenschrank bei langsamem Steigern der Temperatur auf 105—108° vorgenommen.

Als Mittelwert ergab sich ein Gehalt an Rohzellulose von 18,35%.

Rohzellulosebestimmung:

	Einwaage	*Rückstand*	*Rohzellulose*	*Mittelwert*
I	0,3000 g	0,0554 g	18,43%	18,35%
II	0,3000 g	0,0548 g	18,26%	

g) Kupferzahl.

Bei den Vorprüfungen der Droge wurde u. a. auch die Beobachtung gemacht, daß wässerige Abkochungen der Pflanze Fehling-

[20]) Kürschner und Hanak, Ztschr. f. Unters. d. Lebensmittel, Bd. 59, S. 484.

sche Lösung reduzieren, insbesondere nachdem eine Behandlung mit verdünnter Salzsäure vorausgegangen war. Diese Tatsachen ließen eine Bestimmung der Kupferzahl für angebracht erscheinen.

Kupferzahl von Drogen[21]).

Fehling'sche Lösung wird vor allem durch Zuckerarten (Aldosen und Ketosen) reduziert. Die Menge des dabei entstandenen Kupfer(I)oxydes läßt einen Rückschluß auf den Gehalt an diesen Stoffen zu. Fehling'sche Lösung wird nun aber auch von allen den Stoffen reduziert, die die Karbonylgruppe =C=O in einer Aldehyd- oder Ketogruppe enthalten. Darüber hinaus wird Fehling noch durch Polyphenole und andere organische Stoffe reduziert.

Die Kupferzahl, abgekürzt: CuZ, ist nach Müller[21]) diejenige Anzahl Milligramm Kupfer, die der beim Kochen von 1 g Droge mit Fehling'scher Lösung entstandenen Kupferoxydulmenge entspricht. Sie ist gekennzeichnet durch die Gleichung: $CuZ = \frac{\text{Milligramm Cu}}{\text{g angewandte Droge.}}$

Eine andere CuZ erhält man, wenn man das Ausgangsmaterial vor dem Kochen mit Fehling'scher Lösung mit Mineralsäuren kocht. Dadurch wird nämlich eine Reihe von Stoffen gespalten und es entstehen nun dabei Stoffe, die wiederum Fehling reduzieren. Glykoside werden hydrolysiert, ebenso bestimmte Gerbstoffe. Als Hydrolysemittel wird 20%ige Salzsäure angewandt; die Dauer der Einwirkung wird auf 15 Minuten beschränkt. Diese zweite CuZ wird als Inversionskupferzahl (CuZi) bezeichnet.

Eine dritte Konstante erhält man schließlich noch, wenn man den Quotienten von CuZi : CuZ errechnet.

Ausführung:

0,2 g (genau gewogen) mittelfeines Drogenpulver wurden in einem Schliffkolben mit angeschlossenem Rückflußkühler (wegen des Schäumens mußte ein größerer Kolben genommen werden) mit 30 ccm Fehling'scher Lösung (gleiche Teile einer 4%igen Kupfersulfatlösung und einer alkalischen Seignettesalzlösung — 20% Kaliumnatriumtartrat und 15% Natriumhydroxyd —) schnell zum Kochen gebracht und 5 Minuten lang im schwachen Sieden erhalten. Das noch heiße Gemisch wurde unter Nachspülen mit heißem Wasser in ein Zentrifugenglas gebracht und kurz scharf zentrifugiert. Darnach wurde die über dem mit Drogenpulver und Kupfer(I)oxyd stehende Flüssigkeit durch einen Glassinterfilter 1 G 4 gesaugt. Der im Zentrifugenglas zurückbleibende Satz wurde mehrere Male nach jeweiligem Zentrifugieren mit 50—60° warmem Wasser alkalifrei gewaschen.

[21]) J. A. Müller, Pharm. Zentralhalle 1932, S. 450.

Darnach wurde die Waschflasche gewechselt und gegen eine saubere umgetauscht. Das Kupfer(I)oxyd wurde mit 15 ccm einer Lösung, die 50 g Ferrisulfat in 200 ccm konzentrierter Schwefelsäure enthält und die mit Wasser auf 1 Liter verdünnt wurde, aufgelöst. Diese Lösung wurde langsam durch das Filter gesaugt. Zentrifugenglas und Filter wurde zweimal mit 5 ccm Ferrisulfatlösung und daraufhin 3 mal mit je 3—5 ccm Wasser gewaschen. Unter Verwendung einer Feinbürette wurde das entstandene Ferrosulfat mit n/10 Kaliumpermanganatlösung bis zur einige Minuten bestehenbleibenden Rotfärbung titriert. Aus der hierzu verbrauchten Anzahl der Kubikzentimeter wird die Kupferzahl nach der folgenden Formel errechnet: $CuZ = \frac{b \cdot 6{,}375}{a}$ a = angewandte Menge der Droge in g b = Anzahl ccm n/10 $KMnO_4$-Lösung.

Chemismus.

Das entstandene Kupfer(I)oxyd kann nicht durch Wägung festgestellt werden, darum muß zu einer titrimetrischen Bestimmung gegriffen werden.

Inversionskupferzahl.

0,2 g (ebenfalls genau gewogen) getrocknete Blätter wurden mit 25 ccm 20%iger Salzsäure 15 Minuten im schwachen Sieden erhalten und darauf mit 25%iger Natronlauge neutralisiert. Anschließend wurde mit Fehling'scher Lösung gekocht und die Weiterbehandlung in gleicher Weise wie bei der Kupferzahl durchgeführt.

Als Mittelwert ergab sich für die Kupferzahl ein Wert von 49,21.

Für die Inversionskupferzahl 179,0.

Der Quotient: CuZi : CuZ errechnet sich hieraus zu 3,64.

Kupferzahlbestimmung:

	Einwaage	*Verbrauch an n/10 $KMnO_4$ Lövung*	*CuZ*	*CuZi*	*Mittelw.*
I	0,2048 g	1,58 ccm	49,04		49,21
II	0,2034 g	1,58 ccm	49,38		
I	0,1989 g	5,84 ccm		186,6	179,0
II	0,2000 g	5,38 ccm		171,4	

C. Hauptuntersuchungen.

Prüfung auf bestimmte Stoffklassen.

Die Vorproben hatten nur allgemeine Hinweise auf einige Inhaltsstoffe ergeben.

Zweck der nachfolgend durchgeführten Untersuchungen war es aber die Art der Inhaltsstoffe näher aufzuklären.

1. Untersuchung auf Alkaloide.

Die meisten Vorproben auf die Anwesenheit von Alkaloiden waren negativ verlaufen. Nur wenige Reaktionen waren positiv. Wenn auch die Anwesenheit von Alkaloiden in einer Pflanze wie der Artischocke — die Familie der Compositen ist bekannt als arm an Alkaloiden — sehr unwahrscheinlich erschien, so mußte doch eine genauere Untersuchung wegen der Wichtigkeit dieser Körper durchgeführt werden.

Die Alkaloidbasen liegen in den Pflanzen meist als pflanzensaure Salze vor. Diese können mit Wasser aus den Pflanzen herausgelöst werden. Auch Alkohol ist dafür geeignet. Durch Alkalisierung dieser Lösungen tritt eine Spaltung des Salzes ein. Das Alkaloid wird frei und kann dann mittels eines organischen, mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittels herausgelöst und somit abgetrennt werden.

Darauf beruht auch das Verfahren von Stas-Otto. Es wird deshalb zur Prüfung von Pflanzen auf Alkaloide angewandt.

Sowohl getrocknete Artischockenblätter als auch der eingangs erwähnte, mit 45%igem Alkohol hergestellte Trockenextrakt wurden dem Stas-Otto-Gang unterworfen. Da beide Ausgangsmaterialien die gleichen Ergebnisse zeigten, wird im folgenden die Untersuchung nur an den gepulverten Blättern dargestellt.

100,0 g Blätter wurden mit weinsäurehaltigem Weingeist ½ Stunde lang am Rückflußkühler erhitzt. Es wurde noch heiß filtriert und das Filtrat auf dem Wasserbade vom Weingeist befreit. Der zähflüssige Rückstand wurde unter Erwärmen auf dem Wasserbade mit Wasser aufgenommen und nach dem Erkalten filtriert.

Dieses wässerige Filtrat wurde viermal hintereinander mit Äther ausgeschüttelt: Lösung A.

Die wässerige Flüssigkeit ergab mit den Alkaloid-Reagenzien Niederschläge. Sie wurde deshalb mit Natronlauge alkalisch gemacht und wiederum mit Äther ausgeschüttelt: Lösung B.

Bei erneutem Ansäuern der wässerigen Lösung und Versetzen mit Alkaloid-Reagenzien erfolgten noch einmal Ausfällungen. Der Großteil der alkalischen Flüssigkeit wurde deshalb durch Erwärmen vom Äther befreit, mit Salzsäure neutralisiert und mit Ammoniak alkalisch gemacht, und daraufhin mit Chloroform ausgeschüttelt: Lösung C.

Die Lösung A war hellgelb gefärbt und schmeckte stark bitter. Sie wurde zur besonderen Untersuchung beiseitegestellt.

Die Lösung B, die sogenannte „Alkaloid"lösung, wurde am Wasserbade vom Äther befreit, der Rückstand mit salzsäurehaltigem Wasser aufgenommen und filtriert. Im Filtrat gaben Mayer's Reagenz und Jodjodkali sowie andere Alkaloid-Reagenzien Niederschläge, die sich

aber im Gegensatz zu Vergleichsproben, die mit alkaloidhaltigen Lösungen durchgeführt wurden, beim Erhitzen wieder auflösten.

Eine gleichlaufende Behandlung des Rückstandes der Lösung C ergab gleiche Ergebnisse.

Die Fällungen konnten also nicht auf Alkaloide zurückgeführt werden. Nach dem Stas-Otto-Gang waren in den Artischocken-Blättern keine Alkaloide festzustellen.

2. Untersuchung auf Glykoside.

Zum Nachweis von Glykosiden bedient man sich der schon öfter erwähnten, sehr allgemeinen Probe nach Molish, die auf einer Farbreaktion des Zuckeranteils mit einer 20%igen alkoholischen β-Naphthollösung oder einer 20%igen Thymollösung beruht. Sie ist also nicht spezifisch für Glykoside, sondern wird ganz allgemein von allen Kohlehydraten hervorgerufen.

Bei den Vorprüfungen erwies sich diese Probe einige Male mehr oder weniger deutlich. Insbesondere zeigte sie der wässerige Auszug der Pflanze und die ätherische Lösung A des Stas-Otto-Ganges. Einige Zubereitungen ergaben einen negativen Ausfall der Probe.

Man war deshalb bemüht, neben dieser Reaktion eindeutigere Proben für das Vorhandensein von Glykosiden zu erhalten. Die Methode von Bourquelot[22]) stützt sich auf die Glykosid-spaltende Wirkung der Enzyme. Dieses Verfahren bestimmt den sogenannten enzymolytischen Reduktionskoeffizienten, der eine für jedes Glykosid feststehende Größe ist. Er stellt diejenige Menge Glukose in Milligramm pro 100 ccm dar, welche bei der Spaltung eines Glykosides einer Drehung von 1^0 entspricht. Als spaltendes Ferment wird eine β-Glukosidase, nämlich Emulsin, das Enzymgemisch der bitteren Mandeln, verwendet. Des weiteren wird von der Tatsache Gebrauch gemacht, daß die durch Emulsinspaltung entstandenen Zuckeranteile in wässeriger Lösung eine spezifische Drehung aufweisen. Dadurch wird die ursprüngliche Drehung verändert. Diese Änderung des Drehvermögens läßt dann auf das Vorhandensein eines Glykosides schließen. Nach Bestimmung der gebildeten Glukosemenge läßt sich der Reduktionskoeffizient errechnen.

Ausführung:

96%iger Weingeist wurde auf dem Wasserbade zum Sieden gebracht. Sobald der Alkohol zu sieden begann, wurden die Artischockenblätter (250 g) nacheinander in denselben verbracht, ohne damit das Sieden zu unterbrechen. Um Pflanzensäure zu binden, war der Alkohol vorher mit Kalziumkarbonat versetzt worden. Nachdem alles Material in den Alkohol eingebracht war, wurde noch ½ Stunde

---

[22]) Bourquelot, Journ. Pharm. et Chim. 6, 23, 369 (1906).

am Rückflußkühler gekocht. Dadurch wurde eine Stabilisierung, d. h. in diesem Falle eine Unschädlichmachung etwa vorhandener Enzyme erreicht.

Der Auszug wurde abgegossen und der Rückstand nocheinmal mit Weingeist ausgezogen. Die vereinigten weingeistigen Flüssigkeiten wurden filtriert und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde mit Wasser entsprechend der Menge des Ausgangsmaterials zu 250 ccm gelöst, filtriert und mit wenig Chloroform als Antiseptikum versetzt.

Dann wurde diese Lösung in einen Teil von 50 ccm als Vergleichslösung (A) und einen solchen von 200 ccm (B) geteilt und in Flaschen gebracht, die mit Korkstopfen verschlossen waren.

Die Lösung B wurde mit 1,0 g frisch bereitetem Hefepulver (Saccharaselösung aus Bäckerhefe) versetzt. Beide Flaschen wurden 48 Stunden lang in einem Trockenschrank bei einer Temperatur von 30—35° belassen.

Darnach wurden aus jeder Flasche je 20 ccm Flüssigkeit entnommen, zur Klärung mit 4 ccm Bleiessig versetzt, filtriert und im 2-dm-Rohr polarimetrisch geprüft. Die Lösung B zeigte gegenüber der Lösung A eine Abweichung nach links, was auf einen Gehalt an Rohrzucker schließen ließ. Nach vollständiger Vergärung wurde in der Lösung B der Nachweis auf Glykoside durchgeführt.

Die verkorkte Flasche wurde 10 Minuten lang im kochenden Wasserbade behalten. Nach dem Erkalten wurde nach Klärung mit Bleiessig das Drehvermögen festgestellt. Es war gegenüber einer nicht mit Emulsin behandelten Lösung nicht verändert.

Es konnte daraus also geschlossen werden, daß in den Artischockenblättern keine durch Emulsin spaltbaren Glykoside vorhanden waren.

3. Untersuchung auf Saponine.

Unter Saponinen versteht man eine Gruppe von Glykosiden, die besondere physikalische und vor allem biologische Eigenschaften aufweisen. Sie sind in Wasser kolloidal löslich. Saponinlösungen geben beim Schütteln, ähnlich wie Seifen, einen haltbaren Schaum. Diese Eigenschaft hat ihnen auch ihren Namen eingetragen.

Physikalisch bewirken sie den Eintritt von Hämolyse. Diese Eigenschaft wird zu ihrer Erkennung und Bestimmung herangezogen.

Chemische Nachweismethoden sind bis zur Zeit keine einwandfreien bekannt geworden. Nur einige wenige sind in der Literatur verzeichnet, wie z. B. die sofortige Blaufärbung eines saponinhaltigen Auszuges mit einem Lösungsgemisch von Ferrichlorid und Ferri-

zyankali[23]) oder die Rot- bezw. Violettfärbung beim Versetzen einer Droge mit konzentrierter Schwefelsäure[24]).

Ein anderer Nachweis der Saponine wird in dem Schaumvermögen gesehen. Jedoch ist dieser wenig zuverlässig, denn viele andere Stoffe schäumen ebenfalls.

Die am meisten ausgebaute Methode des Nachweises beruht auf der hämolysierenden Wirkung der Saponine. Sie wurde von Kobert[25]) entdeckt und zu einer quantitativen Bestimmung entwickelt. Kofler[26]) verbesserte diese Methode sehr durch die Einführung der sogen. Cholesterinschranke und die Verwendung von Blutgelatine. Dadurch wurde der Nachweis sehr kleiner Mengen möglich.

Die bei den Vorproben erwähnte Schüttelprobe gab bei Artischokkenblättern einen, wenn auch nicht besonders haltbaren, so doch recht kräftigen Schaum. Dies gab Anlaß zu einer genaueren Prüfung auf Saponine, zumal diese wegen ihrer physiologischen Wirksamkeit eine besondere Beachtung verdienen.

Die oben erwähnten chemischen Reaktionen verliefen bei Artischockenblättern ergebnislos.

a) Allgemeine Wertbestimmungsmethode.
(Hämolytische Probe)

In einer Konzentration von 10,0 : 200,0 wurde durch halbstündiges Erwärmen auf dem siedenden Wasserbade aus den grobgepulverten Artischockenblättern eine Abkochung hergestellt. Als Extraktionsmittel wurde eine 0,9%ige Kochsalzlösung, die mit n/30 Phosphatpuffergemisch auf einem p_H-Wert von 7,4 gehalten wurde, verwendet.

Mittels des Wulff'schen Folienkolorimeters wurde der p_H-Wert kontrolliert. Die Einhaltung einer ganz bestimmten Wasserstoffionenkonzentration, sowohl bei der Extraktion als auch bei der Bestimmung selbst, ist von großer Wichtigkeit.

Die Aufschwemmung der Blutkörperchen wurde folgendermaßen hergestellt. Defibriniertes Rinderblut wurde zur Beseitigung des Serums zweimal mit 0,9%iger Kochsalzlösung und einmal mit Pufferlösung zentrifugiert. Die Konzentration des Blutes betrug dabei immer 2%.

Als Vergleichslösung diente eine 0,1%ige mit Puffergemisch hergestellte Digitoninlösung.

Zur Ausführung des Versuches wurde in 10 Reagenzgläser von 10 mm lichter Weite zuerst je 1 ccm gewaschene Blutkörperchen-

---

[23]) Leupin, Pharm. Act. Helevt. Nr. 1, 1935.

[24]) L. Kofler, Die Saponine, S. 63, 1927.

[25]) Kobert, Berichte d. Pharm. Gesellschaft, Bd. 22, 203 (1912).

[26]) Kofler, Archiv der Pharmazie, Bd. 267, 688 (1929).

aufschwemmung gegeben. Dazu kam in fallender Menge von 0,9 ccm bis zu 0,1 ccm Pufferlösung. Mit dem Drogendekokt wurde jeweils bis zu 2 ccm aufgefüllt, sodaß eine steigende Reihe Saponinlösung hergestellt war. In einem weiteren Reagenzglas wurde an Stelle des Auszuges Digitoninlösung verwandt. Nach 12-stündigem Stehen wurde die Reaktion beobachtet. Hämolyse war nur bei der Digitoninlösung deutlich und vollständig eingetreten. Die anderen Proben waren ergebnislos oder zum Teil doch recht undeutlich ausgefallen. Schon diese allgemeine Bestimmungsmethode wies auf eine Abwesenheit der Saponine hin.

b) Blutgelatinemethode[27]).

Um ganz sicher zu sein, wurde auch noch die weit empfindlichere Blutgelatine-Methode durchgeführt. Grundsätzlich ist diese Methode die gleiche wie die vorherige. Das Blut befindet sich aber in einer Gelatinelösung und die Hämolyse zeigt sich durch Ausbildung eines sogen. hämolytischen Hofes an. Die bei diesem Verfahren noch dazu angewandte Cholesterinschranke erlaubt eine Anreicherung der Saponine in der Form der unlöslichen Saponincholesteride. Dadurch werden Täuschungen, die durch andere Stoffe hervorgerufen werden können, ausgeschlossen.

Es wurden Dekokte gleicher Konzentration wie vorher hergestellt, nur mit dem Unterschiede, daß drei verschiedene p_H-Werte gewählt wurden (7,4; 6,2; 8,7). 2 cm breite und 30 cm lange Filtrierpapierstreifen wurden etwa 3 cm oberhalb des unteren Endes mit einer 1%gen Cholesterinlösung befeuchtet und dann getrocknet. Diese Streifen wurden dann zur Kapillarisation zwei Tage lang in die Dekokte eingetaucht. Für jeden p_H-Wert wurden zwei Streifen benützt.

Die noch feuchten Streifen wurden zur Beseitigung wasserlöslicher Verunreinigungen mit Wasser ausgewaschen. Etwa vorhandene Saponine lagen ja in wasserunlöslicher Form vor.

Nach dem Trocknen wurden die Streifen zwei Stunden lang mit Xylol am Rückflußkühler gekocht. Das Saponincholesterid wurde dabei gespalten und das Cholesterin herausgelöst. Die Streifen wurden gründlich mit Äther gewaschen und dann getrocknet. Hierauf wurde sie in die Blutgelatine gebracht.

Diese stellte eine 10%ige Lösung von Gelatina alba dar. Sie war mit Puffergemisch vom p_H-Wert 6,2; 7,4; 8,7 und einem Zusatz von 0,7% Natriumchlorid hergestellt. Eine Klärung erfolgte durch Kochen mit Hühnereiweiß. Die heiß filtrierte Lösung wurde mit 5%iger Natriumbikarbonatlösung auf die verschiedenen p_H-Werte eingestellt und dann mit 3% defibriniertem, und nach oben erwähn-

[27]) L. Kofler, Archiv der Pharm., Bd. 267, 686 (1929).

ter Methode gewaschenem, Blute versetzt. Die 35° warme Blutgelatine wurde auf Glasplatten ausgegossen. Nach dem Erstarren wurde zwischen zwei Platten ein Filtrierpapierstreifen gelegt und nach 12 Stunden das Auftreten eines hämolytischen Hofes beobachtet. Er konnte nirgends festsestellt werden.

Artischockenblätter sind demnach frei von Saponinen.

4. Untersuchung auf Gerbstoffe.

Unter Gerbstoffen versteht man eine größere Anzahl von Pflanzenstoffen, die alle unter dem sehr äußerlichen Begriff zusammengefaßt werden, daß sie einen zusammenziehenden Geschmack besitzen und in wässeriger Lösung Haut in Leder zu verwandeln vermögen. Jedoch ist dies mehr eine technische Bezeichnung einer Stoffklasse, für die genau abgegrenzte chemische Begriffsbestimmungen fehlen.

Freudenberg[28]) nimmt eine Einteilung in zwei Hauptgruppen vor: in die Gallotannine, denen er die der Catechingruppe gegenüberstellt. Den ersteren liegt Glukose zugrunde, die mit Gallussäure oder insbesondere mit Galloylgallussäure verestert ist. Sie sind durch hydrolytische Mittel in ihre Bestandteile spaltbar. Die Gerbstoffe der Catechingruppe sind nicht hydrolysierbar. Sie werden auch als kondensierte Gerbstoffe bezeichnet.

Allen Gerbstoffen, sowohl den Gallotanninen als auch den Catechinen, sind besondere Farbreaktionen mit Eisensalzlösungen und ihre verschiedene Ausfällbarkeit durch Leim, Alkaloide oder Elektrolyte gemeinsam.

Nach den Untersuchungen von Rosa (l. c.) finden sich in den Artischockenblättern Gerbstoffe. Auch konnte bei den Vorprüfungen des Preßsaftes ein zusammenziehender Geschmack beobachtet werden und desgleichen konnte in Abkochungen eine Farbreaktion mit Eisensalzen wahrgenommen werden. Um Näheres über die Art der vorhandenen Gerbstoffe aussagen zu können, wurde eine Untersuchung in Anlehnung an das Gerberei-Chemische Taschenbuch durchgeführt.

Es wurden dazu drei Drogenauszüge, jeweils in einem Ansatzverhältnis von 10 : 200, hergestellt:

1. eine Kaltmazeration (4 Stunden)
2. ein Infus nach dem DAB 6.
3. ein Dekokt nach dem DAB 6.

a) Gelatineprobe.

Zuerst wurde die Gelatineprobe durchgeführt. Je 1 ccm der verschiedenen Lösungen wurde im Reagenzglas tropfenweise mit frisch

[28]) Freudenberg in Klein, Handb. d. Pflanzenanalyse, Bd. 2/1, S. 344 ff.

bereiteter 1%iger Gelatinelösung, der 10% Natriumchlorid zugesetzt war, versetzt. Es traten bei keiner Lösung Fällungen ein.

b) Formaldehydprobe.

Diese Probe dient zur Unterscheidung der Gallotannine und Catechingerbstoffe. Jeweils 50 ccm der verschiedenen Lösungen wurden in einem Erlenmeyer-Kolben mit 5 ccm konzentrierter Salzsäure und 10 ccm 35%iger Formaldehydlösung versetzt, und 30 Minuten über freier Flamme am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen und Filtrieren wurden 10 ccm des Filtrats mit 1 ccm 1%iger Eisenalaunlösung und 5 g festem Natriumazetat versetzt. Es trat keine Färbung ein (keine Gallotannine). Doch konnte beim Kochen bei allen drei Vergleichslösungen eine Fällung beobachtet werden (Catechingerbstoffe).

c) Eisenprobe.

Einige ccm der Lösungen wurden mit einigen Tropfen einer 1%igen Eisenalaunlösung versetzt. Bei Lösung 3 konnte eine schmutzig-grüne Färbung wahrgenommen werden.

d) Bromprobe.

Zu einer kleinen Probe essigsauer gemachter Lösungen wurde tropfenweise starkes Bromwasser gegeben. Es traten sofort in allen drei Lösungen Fällungen auf, was auf Catechingerbstoffe hinwies.

e) Bleiazetatprobe.

Sowohl basisches, wie auch neutrales Bleiazetat gaben mit allen Versuchslösungen Niederschläge.

f) Schwefelammoniumprobe.

Je 25 ccm der Lösungen wurden mit 2 bis 3 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt und 1 bis 2 Minuten gekocht. Die abgekühlte Lösung wurde mit 5 g Kochsalz versetzt und 10 Minuten stehen gelassen. Nach dem Filtrieren wurden 3 ccm des Filtrates zu 15 ccm Wasser hinzugefügt, das 15 Tropfen Schwefelammoniumlösung enthielt. Es trat keine Fällung ein, was ebenfalls auf Catechingerbstoffe schließen ließ.

Zusammenfassung.

Aus dieser Untersuchung ergab sich das Vorhandensein von Gerbstoffen der Catechinreihe in Artischockenblättern.

5. Untersuchung auf Bitterstoffe.

Der bittere Geschmack gehört zu den deutlichsten Sinneswahrnehmungen des Menschen. Von jeher schon verband daher auch der Mensch mit dieser so sinnfälligen Eigenschaft mancher Stoffe besondere Wirkungen. Alles, was bitter schmeckte, wurde kurzerhand für giftig gehalten, gleichgültig ob die Stoffe aus dem Pflanzen- oder Tierreich stammten, oder Mineralien waren.

Spätere Erkenntnisse und Forschungen entdeckten tatsächlich viele bitter schmeckende, stark wirkende Gifte. Ja, fast alle Alkaloide und viele Glykoside sind durch einen solchen Geschmack ausgezeichnet.

Eine allgemeine chemische Begriffsbestimmung für Bitterstoffe zu finden, fällt noch schwerer als für alle vorausgegangenen Stoffklassen. Eine Einteilung nach chemischen Grundsätzen bringt wenig Ordnung in die Vielzahl dieser Stoffe. Neuere Forschungen haben ergeben, daß besondere Radikale, nämlich die Hydroxyl- und die Aminogruppe, Träger des bitteren Geschmacks seien.

Um überhaupt eine Einteilung zu treffen, ging man daher zu einer mehr willkürlichen Einordnung über. Es wurde versucht, die Bitterstoffe nach pharmakologischen Grundsätzen zu ordnen, indem man sie in gänzlich unwirksame, therapeutisch brauchbare und giftige schied.

Der bittere Geschmack der Artischockenblätter war schon lange bekannt. Einige glaubten daher einen Ersatz für das teure Chinin gefunden zu haben und Guitteau (l. c.) nannte den bitteren Inhaltsstoff kurzerhand Cynarin. Doch haben neuere Untersuchungen ergeben, daß dieses Cynarin nur einen wenig gereinigten Trockenextrakt darstellt.

Der bittere Geschmack trat bei mehreren Voruntersuchungen deutlich auf und eine genauere Untersuchung schien umsomehr angebracht, als gerade Bitterstoffe in der Therapie sehr oft bei Erkrankungen der Galle mit besonderer Vorliebe angewandt werden. Es sei, um nur ein Mittel zu erwähnen, der gallentreibende Tee (Species cholagogae) der Formulae Magistrales Berolinienses (F.M.B.) genannt.

Die Darstellung von Bitterstoffen beschränkt sich je nach ihrer Art auf verschiedene Methoden. Im folgenden wurden insbesondere das Kohleadsorptionsverfahren und die Extraktion mit organischen Lösungsmitteln angewandt. Auch die Bleimethode wurde benützt. Das sonst sehr übliche Tanninverfahren konnte nicht angewandt werden, da der Bitterstoff der Artischocke sich nicht mit Tannin ausfällen ließ.

a) Bleimethode.

Der bittere Geschmack wurde zuerst in einem alkoholischen Auszug aus dem Rückstand des Preßsaftes der Blätter festgestellt,

während dieser selbst nicht bitter schmeckte. Auch in den unbearbeiteten Blättern konnte er deutlich wahrgenommen werden. In dem erwähnten alkoholischen Auszug wurde nun versucht, mit Hilfe der Bleimethode eine Abtrennung des Bitterstoffes vorzunehmen. Es konnte nämlich festgestellt werden, daß der Bitterstoff mit Bleiazetat nicht ausgefällt wurde, sondern im Filtrat erhalten blieb.

Die Bleimethode hat aber viele Nachteile, da es immer nötig ist, das störende Blei aus den einzelnen Abschnitten zu entfernen. Besonders die Entfernung des Bleis mit Schwefelwasserstoff ist recht unliebsam, da das gebildete Bleisulfid infolge seiner großen Oberfläche sehr leicht auch andere Stoffe adsorbieren kann. Es wurde deshalb folgender Weg beschritten.

Etwa 50 g des alkoholischen Auszuges wurden in einer Mischung von 60 g Wasser mit 100 g 96%igem Weingeist auf dem Wasserbad vollständig gelöst. In dieser Lösung wurde nun mit neutraler 10%iger Bleiazetatlösung eine quantitative Ausfällung vorgenommen.

Das Filtrat wurde nun nicht mit Schwefelwasserstoff entbleit, sondern es wurde dazu verdünnte Schwefelsäure angewandt. Die überschüssige Schwefelsäure wurde mit Barytwasser nach der Tüpfelmethode neutralisiert. Dabei wurde darauf geachtet, daß die Lösung leicht schwefelsauer blieb, denn es konnte festgestellt werden, daß schon geringe Mengen überschüssigen Alkalis den bitteren Geschmack zum Verschwinden bringen konnte. Das abgeschiedene Blei- und Bariumsulfat wurde durch Zentrifugieren abgesetzt und darauf die Lösung filtriert. Das Filtrat wurde im Vakuum (15 mm Hg) bei 25—30° eingeengt. Das erhaltene Konzentrat war von hellgelber Farbe und schmeckte sehr bitter. Die Flüssigkeit wurde weiterhin im Vakuum bis zur Trockene eingedampft. Es blieb eine zähe, braune, sehr bitterschmeckende Masse zurück. Sie löste sich im Wasser mit einem würzigen, an Glutaminsäure erinnernden, nachhaltig und heftig bitterem Geschmack auf. Fehling'sche Lösung wurde stark reduziert. Alkaloidreagenzien gaben Niederschläge, die sich aber beim Erwärmen wieder lösten. Kristalle konnten nicht bemerkt werden.

b) Kohleadsorptionsverfahren.

Die Bleimethode hatte viele Nachteile. Insbesondere waren die Stoffe verhältnismäßig lange ziemlich starken Eingriffen ausgesetzt. Es wurde nun versucht, mit dem Kohleadsorptionsverfahren zu günstigeren Ergebnissen zu gelangen.

Kromayer[29]) war einer der ersten, der zur Gewinnung und Darstellung des Wermutbitterstoffes dieses Verfahren anwandte. Es

[29]) Kromayer, Archiv der Pharm., Bd. 158, S. 129 (1861).

wurde in der Folgezeit ein allgemeines und sehr beliebtes Mittel zur Reindarstellung von Bitterstoffen. Deshalb und weil auch der Wermut-Bitterstoff im Geschmack dem des Artischockenblattes sehr ähnelte, wurde dieses Verfahren vor allem gewählt.

Es baut sich auf folgender Grundlage auf: Die meist wässerige Lösung, in der sich der Bitterstoff befindet, wird mit aktiver Kohle gekocht. Diese adsorbiert infolge ihrer großen Oberfläche verschiedene Stoffe; neben den Farb- und Geruchstoffen wird auch der Bitterstoff aufgenommen. Aus der Kohle kann man dann durch Kochen mit, von Fall zu Fall besonders zu wählenden, organischen Lösungsmitteln, den Bitterstoff wieder herauslösen.

Ausführung:

1. Versich an getrockneten Blättern. 50,0 g Blätter wurden dreimal mit Hilfe einer kleinen Handpresse stark ausgepreßt. Der Preßrückstand der Blätter schmeckte dann nicht mehr bitter. Die vereinigten Flüssigkeiten wurden filtriert und auf dem Wasserbade bis zur Hälfte des Volumens eingeengt. Daraufhin wurden 25 g aktive Kohle (Carbo med. Merck) zugegeben und noch einmal einige Minu- über freier Flamme erhitzt. Dann wurde die Kohle abgenutscht und mit destilliertem Wasser solange ausgewaschen, bis das Filtrat farblos ablief. Die ersten Anteile des Filtrats waren gelbgefärbt und schmeckten deutlich salzig.

Die bei 100° getrocknete Kohle wurde dann am Rückflußkühler mit 100 ccm 96%igem Weingeist ausgekocht, die Lösung von der Kohle abfiltriert und das Filtrat eingeengt. Es blieb ein hellgelber Rückstand von honigartiger Beschaffenheit und höchst bitterem Geschmack zurück. Die wässerige Lösung gab mit Bleiazetat einen Niederschlag (Nebenstoffe), mit Tannin jedoch konnte, im Gegensatz zu dem Bitterstoff des Wermuts, keine Fällung hervorgerufen werden. In Äther war der Rückstand nicht löslich.

2. Auf ähnliche Weise wurde auch der mit 45%igem Alkohol hergestellte Artischockenblätter-Extrakt behandelt, nur mit dem Unterschiede, daß diesmal die getrocknete Kohle mit Äther ausgezogen wurde. Auch die Ätherlösung schmeckte deutlich bitter; sie war fast farblos und hinterließ beim Verdunstenlassen in der Schale ein gelbes Häutchen, das sehr stark bitter und etwas scharf schmeckte. Trotz verschiedenster Bemühungen, den Bitterstoff kristallin zu erhalten, konnte dies nicht erreicht werden. Auch die Anwendung verschiedenartigster Lösungsmittel hatte keinen Erfolg.

Somit lieferte auch das Kohleadsorptionsverfahren keine befriedigenden und zum Ziele führenden Ergebnisse.

c) Aufeinanderfolgende Extraktion mit organischen Lösungsmitteln.

Bei den Vorprüfungen konnte bei der aufeinander folgenden Extraktion der Blätter festgestellt werden, daß in einen mit Petroläther hergestellten Auszug kein Bitterstoff überging. Damit schien ein neuer Weg gezeigt zu sein, um eine Isolierung des Bitterstoffes zu erreichen, zumal eine darauffolgende Extraktion mit Äther einen sehr bitteren Extrakt lieferte und durch die vorhergehende Extraktion mit Petroläther manche störenden Begleitstoffe (Fette, Farbstoffe) schon ausgeschieden waren.

Ausführung:

Eine größere Menge Droge wurde zu diesem Zwecke über lange Zeit erschöpfend mit Petroläther perkoliert. Der Petroläther wurde eingeengt, mit gebranntem Natriumsulfat getrocknet und eingeengt.

Die so vorbehandelten Blätter wurden nach dem Trocknen einer erschöpfenden Perkolation mit Äther unterworfen. Auch der Ätherextrakt wurde mit Natriumsulfat getrocknet und vorsichtig eingeengt. Der so gewonnene Auszug war dunkelgrün und schmeckte stark bitter.

Dieser Ätherauszug wurde nun als Ausgangsmaterial für die Ermittelung des Bitterstoffes verwendet.

Der ätherische Auszug enthielt sehr viel störende Begleitstoffe (Chlorophyll, Farbstoffe), die es zuerst galt auszuschalten. Dabei wurde von der Tatsache Gebrauch gemacht, daß auch im wässerigen Medium der Bitterstoff löslich war.

Der Ätherextrakt wurde am Wasserbade vollständig von Äther befreit und der zähe, grüne Rückstand am kochenden Wasserbade mit Wasser längere Zeit durchgearbeitet. Ein ziemlich großer Teil löste sich im Wasser. Diese Lösung war sehr wenig gefärbt, schmeckte sehr stark bitter und hatte einen aromatischen Geruch.

Die Reaktion der Flüssigkeit war gegen Lackmus neutral, mit Mayer's Reagenz trat keine Fällung ein, die Molish'sche Probe war positiv, Fehling'sche Lösung wurde reduziert und Bleiazetat gab keinen Niederschlag.

Da man von einem verhältnismäßig stark konzentrierten Ausgangsmaterial ausgehen mußte, hatte man beim Auslaugen mit Wasser eine ziemlich große Menge Flüssigkeit erhalten. Um nun darin eine möglichst schonende Anreicherung des Bitterstoffes zu erreichen, wurde von einer weiteren Behandlung in der Wärme abgesehen. Die vereinigten wässerigen Filtrate wurden mehrmals nacheinander mit Äther ausgeschüttelt. Die gesammelten ätherischen Lösungen wurden mit Kalziumchlorid getrocknet und im Vakuum eingeengt. Es blieb als Rückstand eine gelbe, zähe, honigähnliche Flüssigkeit, die außer-

ordentlich bitter schmeckte. Versuche, zu Kristallen zu gelangen, waren ergebnislos.

Wenngleich die Behandlung mit Äther, wie sie eben durchgeführt wurde, zu einer sehr guten Anreicherung des Bitterstoffes führte, so wurde dennoch eine andere Möglichkeit versucht, um zu einer kristallisierenden Form des Bitterstoffes zu gelangen.

Der Ätherauszug aus den Blättern wurde auf dem Wasserbade wieder vom Äther befreit und zur Oberflächenvergrößerung mit Seesand vermischt und mit warmem Wasser auf dem siedenden Wasserbade digeriert. Dann wurde filtriert. Das Filtrat war hellgrün und schmeckte bitter. Nun wurde nicht mit Äther, sondern mit Chloroform ausgezogen. In dieses ging sowohl die Farbe wie auch der bittere Geschmack über. Beim Verdunstenlassen blieb ebenfalls nur ein grüner, zäher, pappiger und sehr bitterer Rückstand.

Da sich aber erwiesen hatte, daß aus wässeriger Lösung der Bitterstoff mit Äther angereichert werden konnte, wurde nun versucht, den kostspieligen und langwierigen Ätherauszug aus der Pflanze zu umgehen und direkt aus einem Heißwasserextrakt der Pflanze eine Anreicherung zu erzielen. Zu diesem Zwecke wurde ein mit heißem Wasser hergestellter Auszug in einem Glasfritteperforator während mehrerer Tage hindurch mit Äther perforiert. Man hatte dabei den Vorteil mit einer sehr geringen Menge Äther den Bitterstoff quantitativ aus einer größeren Menge Lösung auszuziehen. Der Äther war nach Beendigung der Perforation hellgelb gefärbt und nach dem Abdestillieren verblieb wiederum ein zäher, pappiger und sehr bitterer Rückstand. Kristallisationsversuche waren ergebnislos.

Zusammenfassung:

Es ist nicht gelungen den Bitterstoff des Artischockenblattes kristallisiert zu erhalten. Jedoch konnte er auf verschiedene Weise angereichert werden. Die Bleimethode schien dazu am wenigsten geeignet. Das Kohleadsorptionsverfahren bedeutet wohl eine Verbesserung, doch steht es hinter der Methode zurück, die den Bitterstoff mittels organischer Lösungsmittel direkt oder indirekt aus Extrakten anreichert. Die Bitterstoffanreicherungen waren immer amorph und lösten sich in Chloroform sowohl wie im heißen Wasser. Aus diesem schied sich beim Abkühlen der Bitterstoff wieder in öligen Tropfen aus. Wenngleich auch der Bitterstoff nicht in kristalliner Form zu fassen war, so erscheint er doch als einer der bemerkenswertesten Inhaltsstoffe der Artischocke. Der bittere Geschmack ist eine hervorstechende Eigenschaft der Pflanze. Wenn nun auch hierbei keine anderen Ergebnisse erzielt werden konnten, so ist doch dem bitteren Prinzip in der Artischocke eine vermehrte Beachtung zu schenken.

6. Darstellung einer kristallinen Substanz aus dem Ätherextrakt.

Bei Versuchen, den Bitterstoff zu reinigen, wurden die amorphen Rückstände in Chloroform gelöst und durch eine mit Aluminiumoxyd beschickte Röhre gesogen. Einige Farbstoffe blieben in der Aluminiumoxydschicht. Das Filtrat wurde in einer Kristallisierschale am Wasserbad vom Chloroform befreit. Dabei blieb ein aus weißen, zahlreichen, glänzenden Nädelchen bestehender Rückstand zurück.

Um eine größere Menge dieser Substanz zu erhalten, wurde eine Aufarbeitung nach folgendem Schema vorgenommen. Der schon im vorigen Abschnitt erwähnte konzentrierte Ätherauszug wurde nach dem vollständigen Entfernen des Äthers mit so viel Seesand verrieben, daß er sich leicht von der Schalenwand löste. Dann wurde Wasser hinzugefügt und der Brei längere Zeit mit dem Pistill durchgearbeitet. Die wässerige Lösung wurde abgegossen und der Vorgang so lange wiederholt, bis das Wasser nicht mehr bitter schmeckte. Die vereinigten, wässerigen, bitterschmeckenden, hellgrün-gefärbten Auszüge wurden filtriert und im Vakuum eingeengt. Dabei setzte sich eine braune, zähe Substanz am Boden ab, die bitter schmeckte. Die darüber stehende sirupartige Flüssigkeit war grün gefärbt und schmeckte ebenfalls bitter. Die beiden Phasen wurden voneinander getrennt.

Die Flüssigkeit wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, bis sie nicht mehr bitter schmeckte (Chloroformlösung I). Der zähe, braune Bodensatz wurde mit Chloroform am Rückflußkühler gekocht (Chloroformlösung II). Es verblieb ein unlöslicher Rückstand, der im warmen Alkohol löslich war. Die Chloroformlösungen waren von hellgelber Farbe. Lösung I und II wurden vereinigt und auf dem Wasserbade auf etwa $^1/_3$ des Volumens eingeengt.

Diese konzentrierte Chloroformlösung wurde nun durch eine Adsorptionsröhre (Al_2O_3) geschickt. Die gelben Farbstoffe wurden oben festgehalten. Die ersten Anteile des ablaufenden Chloroforms waren farblos, doch kam bald ein grüner Nachlauf. Auch ein mehrmaliges Durchsaugenlassen konnte die Farbstoffe nicht restlos zurückhalten.

Das Filtrat wurde nun am Wasserbade eingeengt. Es schieden sich feine, glänzende, nadelförmige Kristalle aus, von denen die gelbgrüne Mutterlauge abgetrennt wurde. Durch Waschen mit Äher konnte diese vollends entfernt werden.

Untersuchung der Kristalle.

Die Kristalle waren in Chloroform und heißem Wasser leicht, in Äther kaum löslich. Sie hatten einen schwach bitteren Geschmack.

Bei einer Temperatur zwischen 150° und 180° sublimierten sie. Das Mikrosublimat bestand aus farblosen Nadeln. Zur Kennzeichnung der Kristalle wurden ihre physikalisch-chemischen Daten bestimmt.

Schmelzpunkte.

Makroschmelzpunkt: Die Kristalle sinterten beim Vakuumschmelzpunkt bei 226° zusammen und schmolzen bei 229—230°. Im offenen Röhrchen verschob sich der Schmelzpunkt auf 231°.

Mikroschmelzpunkt nach Kofler: Die Kristalle wurden vorher durch Mikrosublimation gereinigt. Nach Einschluß des Präparates mittels einer Kittmasse wurde zunächst ein Mikroschmelzpunkt von 216° gefunden. Beim Erkalten erstarrte die Masse zu farnkrautartigen Gebilden. Bei nochmaligem Erhitzen schmolzen diese bei 229°.

Verbrennung.

Bei der Verbrennung ergaben sich folgende Werte:
6,235 mg Substanz: 11,32 mg CO_2; 2,93 mg H_2O.
5,985 mg Substanz: 1,502 ccm N_2 (21°, 747 mm Hg).
$C_4H_5N_2O$ Ber.: C : 49,43; H : 5,19; N : 28,85;
Gef.: C : 49,52; H : 5,26; N : 28,64.

Molekulargewichtsbestimmungen.

Es wurden die Molekulargewichtsbestimmungen nach Beckmann und Rast durchgeführt.

1. Molekulargewichtsbestimmung nach Beckmann (kryoskopische Methode):
   Einwaage: 14,16 mg; D = 0,044°; 5 ccm Benzol = d_{20} = 0,879; K = 2,57;
   Ergebnis: M = 188,0.
2. Molekulargewichtsbestimmung nach Rast:
   Einwaage: 1,390 mg; 15,11 mm Kampfer; K = 40;
   D = 18,6°.
   Ergebnis: M = 198,0.

Der hohe Stickstoffgehalt (28,64%) war sehr erstaunlich und ließ eine Ähnlichkeit mit Koffein oder doch wenigstens einem Purinkörper vermuten.

Um diese Vermutungen zu erhärten wurden nun Vergleiche und Gegenüberstellungen mit den Daten des Koffeins durchgeführt.

Schmelzpunkte:	*Koffein:*	*Kristalle:*
Im Vakuumröhrchen	213—215°	229—230°
Im offenen Röhrchen	233—234°	231°.

Der Mischschmelzpunkt mit Koffein ergab keine Änderung.

Verbrennungswerte.

Koffein):*	*Kristalle:*
C : 49,43%	C : 49,52%
H : 5,19%	H : 5,26%
N : 28,85%	N : 28,64%
O : 15,53%	O : 16,58%

Molekulargewichte.

Koffein):*	*Kristalle:*
194,11	193,0 (Mittelwert)

Dazu kommt noch, daß die Summenformel des Koffeins ($C_8H_{10}N_4O_2$) ein einfaches Multiples, nämlich gerade das Doppelte der aus den Verbrennungswerten errechneten Substanz darstellt.

Chemische Identifizierung.

Neben diesen gut übereinstimmenden Daten wies auch die chemische Identifizierung durch die Murexidprobe auf Koffein hin.

Wenige Kristalle wurden mit Wasserstoffsuperoxyd und Salzsäure in einem Alkaloidschälchen auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft und dann sofort mit einem Tropfen Ammoniak befeuchtet. Es entstand eine intensive Violettfärbung von gleicher Tönung wie beim reinen Koffein.

Das Vorkommen von Koffein in der Artischocke ist außerordentlich merkwürdig und eigenartig. Nicht nur die Tatsache, daß die Compositen meist frei von alkaloidartigen Inhaltsstoffen sind, sondern auch, daß Koffein bislang in nur sehr wenigen Pflanzen, z. B. Coffea arabica, Thea chinensis, Thebroma Cacao, Cola acuminata, Ilex paraguarensis, Paulinia sorbilis, gefunden wurde, erforderte eine besonders kritische Untersuchung.

Zuerst wurde vermutet, daß die zur Extraktion benutzten Lösungsmittel mit Koffein verunreinigt gewesen seien. Deshalb wurden auch Versuche mit vorher strengstens gereinigten Lösungsmitteln durchgeführt. Aber auch hier zeigten sich die gleichen Ergebnisse.

Um noch eine Kontrolle zu haben, wurden die gleichen Versuche auch noch von anderer Seite ausgeführt und insbesonders die physikalisch-chemischen Daten nochmal einer genauen Prüfung unterzogen. Aber auch hier ergab sich vollkommene Übereinstimmung.

Somit kann man sehr wohl zu der Schlußfolgerung kommen, daß Koffein in der Artischocke vorkommt, was ja auch mit ihrer diuretischen Eigenschaft in Einklang zu bringen ist.

---

*) Koffein wasserfrei.

7. Darstellung einer kristallinen Substanz aus der Bleifällung des Heißwasserextraktes.

Da auch aus einem Heißwasserextrakt die vorher beschriebenen Kristalle durch Ausschüttelung mit Chloroform gewonnen werden konnten und durch verschiedene Versuche bewiesen war, daß in einen wässerigen Auszug eine große Anzahl von Inhaltsstoffen übergeht, lag der Gedanke nahe, den Heißwasserextrakt nochmals einer besonderen Untersuchung zu unterziehen.

Ausführung:

Eine größere Menge Artischockenblätter wurde mit heißem Wasser erschöpfend ausgezogen und die vereinigten Filtrate eingeengt und mit basisschem Bleiazetat gefällt.

Behandlung der Bleifällung.

Die dadurch erhaltene Bleifällung wurde einige Male mit heißem Wasser ausgewaschen, um sie von überschüssigem Bleiazetat zu befreien. Dann wurde sie in heißem Wasser suspendiert und durch Einleitung von Schwefelwasserstoff entbleit. Die Bleisulfidfällung wurde auf der Nutsche mehrmals mit heißem Wasser ausgewaschen. Die vereinigten wässerigen Lösungen (Filtrate) wurden im Vakuum zur Trockene eingedampft.

Dieser Trockenextrakt war von brauner Farbe, schmeckte säuerlich, aber nicht bitter. Er wurde gepulvert und im Soxhlet-Apparat mit Äther extrahiert. Der Äther färbte sich leicht gelb und nach einiger Zeit konnte im Extraktionskolben eine kristalline Ausscheidung bemerkt werden. Daraufhin wurde der Kolben gegen einen neuen ausgetauscht und mit frischem Äther weiter extrahiert. Der erste Anteil der erhaltenen Kristalle wurde beiseite gestellt. Die Ätherextraktion wurde während mehrerer Tage durchgeführt. Dann wurde auch dieser Auszug einen Tag über im Eisschrank sich selbst überlassen.

Am Boden des Extraktionskolbens hatten sich mehr oder weniger gut ausgebildete Kristalle in Form büschelförmig angeordneter Nadels von weißer bezw. leicht gelber Farbe ausgeschieden. Die Mutterlaugen wurden vorsichtig abgegossen und miteinander vereinigt. Auch sie wurden wieder eingeengt, langsam erkalten gelassen und in den Eisschrank zur Kristallisation gestellt. Dies wurde so lange wiederholt, bis nichts mehr auskristallisierte. Die abgeschiedenen Kristalle wurden nach dem Abgießen der Mutterlauge am heißen Wasserbade von den letzten Resten Äther befreit, dann gesammelt und alle erhaltenen Anteile vereinigt.

Die so gewonnenen Kristallfraktionen waren unter sich noch uneinheitlich hinsichtlich Form und Reinheit. Sie wurden deshalb nochmals in einer genügenden Menge warmen Äthers am Rückflußkühler

gelöst. Die Lösung wurde in einen Erlenmeyer-Kolben überführt und dann auf die Hälfte eingeengt. Beim langsamen Erkalten schieden sich Kristalle aus. Die Kristallisation war nach eintätigem Stehen im Eisschrank beendet. Die Mutterlauge wurde abgegossen und nach der Trocknung wurden die Kristalle gesammelt.

Untersuchung der Kristalle.

Das Kristallisat bestand aus farblosen, feinen, zu Büscheln vereinigten Nädelchen. Der Geschmack war fade und zum Schluß leicht säuerlich, aber nicht bitter. Der Geruch war eigenartig. Eine wässerige Lösung reagierte stark lackmussauer. Auf dem Platinblech verbrannten die Kristalle fast ohne Rückstand; dabei entwikkelten sie einen weißen, zum Husten reizenden Rauch.

Die Kristalle lieferten ein schönes, aus farblosen Nädelchen bestehendes Mikrosublimat.

Schmelzpunkte.

Makroschmelzpunkt: Mehrere Proben ergaben Schmelzpunkte zwischen 183 und 187°.

Mikroschmelzpunkt: Bei 160° konnte ein Zusammensintern der Kristalle beobachtet werden. Der Schmelzpunkt lag zwischen 180 und 192°.

Die Kristalle waren in heißem Wasser, Azeton und Pyridin gut löslich. In absolutem Alkohol und in Äther waren sie schwer löslich. Unlöslich waren sie in Chloroform, Eisessig und Essigäther.

Mit Eisenchlorid gaben sie keine Blaufärbung. Fehling'sche Lösung wurde nicht reduziert. Kalipermangantlösung wurde in schwefelsaurer Lösung langsam entfärbt. Der Stickstoffnachweis war negativ, ebenso war ein Schwefelnachweis ergebnislos.

Verbrennung.

Bei der Verbrennung ergaben sich folgende Werte:
5,2438 mg Substanz: 9,2950 mg CO_2; 2,8576 mg H_2O.
$C_2H_3O_2$ Ber.: C : 40,66; H : 5,12.
Gef.: C : 40,66; H : 5,29.

Diese Zahlen stimmen mit denen der Bernsteinsäure gut überein (Bernsteinsäure: C : 40,66; H : 5,13).

Zur Kontrolle wurde auch noch eine Bestimmung des Molekulargewichtes durchgeführt, und zwar indem man das Äquivalentgewicht durch Titration n/100 Natronlauge bestimmt. Es errechnete sich dabei zu 57,5, was einem Molekulargewicht von 115,0 entspricht (Bernsteinsäure 118,05).

Auch die Summenformel der Bernsteinsäure ($C_4H_6O_4$) entspricht der berechneten Summenformel.

VI. Zusammenfassung.

1. Angaben über die arzneiliche Verwendung der Artischockenblätter in älterer und neuerer Zeit, insbesonders aber eindeutige Feststellungen in der jüngsten Gegenwart über eine ausgesprochene und bestimmte Wirkung auf die Leber- und Gallenwege, ließen eine genauere Untersuchung der Artischockenblätter besonders angebracht erscheinen.
2. Die zu einem allgemeinen Überblick durchgeführten Vorproben deuteten auf das Vorhandensein mehrerer therapeutisch wertvoller Inhaltsstoffe.
3. Zur Kennzeichnung der Pflanze wurden einige quantitative Bestimmungen durchgeführt. Extraktgehalt, Wassergehalt, Asche, Stickstoff nach Kjeldahl und Ammoniak, sowie Rohfaser und Kupferzahl wurden ermittelt.
4. Alkaloide, Glykoside und Saponine konnten bei den Hauptuntersuchungen auf bestimmte Inhaltsstoffe nicht nachgewiesen werden. Gerbstoffe wurden gefunden und als zur Klasse der Katechingerbstoffe zugehörig erkannt. Das Vorhandensein eines Bitterstoffes konnte als besonders bemerkenswert festgestellt werden.
5. Es wurde deshalb versucht, den Bitterstoff in reiner Form darzustellen. Es konnte aber nur eine Anreicherung erzielt werden. In kristalliner Form konnte der Bitterstoff nicht gewonnen werden. Die stärkste Anreicherung wurde bei einer fraktionierten Extraktion mit organischen Lösungsmitteln beobachtet. Der Bitterstoff schied sich stets als amorphe Masse von harzartiger Beschaffenheit aus. Er ist in Wasser und den meisten organischen Lösungsmitteln löslich, jedoch unlöslich in Petroläther. Mit Bleiazetat und Tannin ist er nicht fällbar.
6. Bei den Versuchen, die Bitterstofflösungen mittels einer Filtration durch Aluminiumoxydschichten zu reinigen, konnte im Filtrat ein kristallinischer Niederschlag festgestellt werden. Davon wurden mehrere Konstanten ermittelt. Makro- und Mikroschmelzpunkt, sowie eine Elementaranalyse und eine Molekulargewichtsbestimmung wurden durchgeführt. Nach den gewonnenen Daten konnte man die Schlußfolgerung ziehen, den Stoff als Koffein anzusehen. Auch die Murexidprobe war positiv.

   Das Vorkommen des Koffeins in Artischockenblättern ist als sehr eigenartig anzusehen, da Koffein bisher nur in wenigen und schon lange bekannten Pflanzen festgestellt ist.
7. Aus der Bleifällung eines Heißwasserextraktes der Artischockenblätter konnte Bernsteinsäure isoliert werden. Sie wurde durch ihre Kennzahlen identifiziert.

Lebenslauf.

Am 26. Oktober 1910 wurde ich als Sohn des Oberlehrers Friedrich Feldmaier und seiner Ehefrau Eleonore, geb. Paulus, in München geboren. Hier besuchte ich von 1917—1921 die ersten vier Volksschulklassen, dann drei Klassen des humanistischen Theresiengymnasiums. Den Rest der Gymnasialzeit verbrachte ich auf dem Neuen Realgymnasium (München). Hier legte ich an Ostern 1930 die Reifeprüfung ab.

Nach einem dreimonatigen Auslandsaufenthalt war ich vom 1. Oktober 1930 bis zum 30. September 1931 als Apothekerpraktikant in der Elefanten-Apotheke zu München. Hier legte ich im September 1932 das pharmazeutische Vorexamen ab. Mein Vorexaminierten-Jahr leistete ich in der St. Johannis-Apotheke in München ab.

Im Winterhalbjahr 1933 bezog ich die Universität München, um mich dem Pharmaziestudium zu widmen. Das pharmazeutische Staatsexamen legte ich dort im Oktober 1935 ab. Anschließend arbeitete ich zwei Halbjahre an der Universität München organisch-chemisch (Chemisches Laboratorium des Staates) und botanisch-physiologisch (Botanische Staatsanstalten).

Vom 1. Juli bis 31. Dezember 1936 war ich zur Ableistung meines sozialen Berufslandhalbjahres in der Stadt-Apotheke in Pottenstein/Oberfranken tätig.

Am 1. Januar 1937 erhielt ich die Approbation als Apotheker.

Vom Frühjahr 1937 an war ich mit der vorliegenden Arbeit beschäftigt. Die Arbeit wurde vom 18. Juli 1939 bis zum 15. Oktober 1940 durch meine Einberufung zur Wehrmacht unterbrochen. Während eines Arbeitsurlaubes konnte sie beendet werden.